

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS FÍSICAS

Departamento de Física Aplicada III



**MECANISMOS DE AGREGACIÓN Y ORIENTACIÓN DE
CÉLULAS BASADOS EN DIELECTROFÓRESIS**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Vicente José Giner Herrera

Bajo la dirección del doctor

Miguel Sancho Ruiz

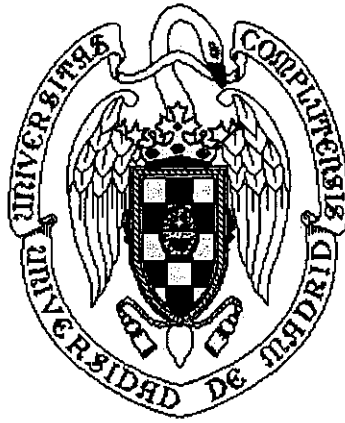
Madrid, 2003

ISBN: 978-84-669-1579-3

©Vicente José Giner Herrera, 1999

TI 1999/27

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS FISICAS



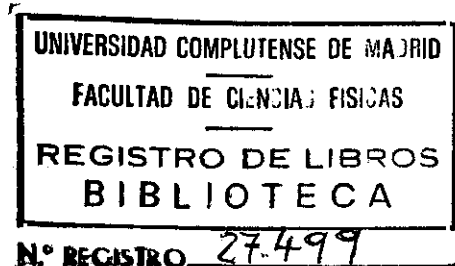
**MECANISMOS DE AGREGACION Y
ORIENTACION DE CELULAS
BASADOS EN DIELECTROFORESIS**

TESIS DOCTORAL

Vicente José Giner Herrera

Febrero 1999

T 1999/27



Indice	1
Indice	1
Agradecimientos	4
Objetivos e interés de esta tesis	6
Publicaciones a que ha dado lugar esta tesis	11

Capítulo 1

Fuerzas electromagnéticas en medios disipativos

1.1 Introducción	14
1.2 Esfuerzos en medios disipativos	15
1.3 Aplicaciones de la teoría a sistemas concretos	18
1.3.1 Carga oscilante frente a un dieléctrico plano semi-infinito.....	19
1.3.2 Elevación de un fluido entre dos placas paralelas cargadas.....	21
1.3.3 Fuerza sobre una partícula esférica en un campo no uniforme.....	23
1.4 Discusión	30
1.5 Bibliografía	33

Capítulo 2

Agregación dielectroforética de partículas: Una simulación de Montecarlo

2.1 Introducción	36
2.2 Teoría de la interacción de partículas	37
2.3 Simulación de Montecarlo y resultados	41
2.3.1 Modelo numérico.....	41
2.3.2 Condiciones de contorno periódicas. Método de Poisson.....	43
2.3.3 Resultados.....	47
2.3.4 Determinación de un umbral de agregación: Campo crítico.....	51

2.4 Extensión de la simulación de Montecarlo para el caso de partículas elipsoidales.....	55
2.4.1 Teoría de la polarizabilidad de una partícula elipsoidal con membrana. Electroorientación de elipsoides.....	57
2.4.2 Simulación de Montecarlo.....	60
2.4.3 Cálculo del momento dipolar inducido para una orientación arbitraria	61
2.4.4 Estudio de la condición de exclusión entre dos partículas elipsoidales.....	63
2.4.5 Cálculo de la energía de interacción.....	64
2.5 Resultados de la simulación de Montecarlo para partícula elipsoidales.....	66
2.5.1 Estudio de la electroorientación en función de la frecuencia.....	66
2.5.2 Dependencia de la dirección de encadenamiento con la excentricidad de la partícula.....	67
2.6 Conclusiones.....	72
2.7 Bibliografía.....	74

Capítulo 3

Mecanismos de agregación en suspensiones binarias

3.1 Introducción.....	77
3.2 Teoría de la interacción en suspensiones binarias.....	78
3.3 Simulación de Montecarlo.....	80
3.4 Observaciones experimentales.....	85
3.4.1 Montaje experimental.....	85
3.4.1.1 Preparación de las muestras.....	87
3.4.1.2 Construcción de los electrodos.....	87
3.4.2 Cálculo del campo aplicado.....	88
3.4.4 Resultados gráficos.....	90
3.4.4.1 Análisis de imágenes... ..	91
3.4.4.1.1 Partículas de poliestireno.	92
3.4.4.1.2 Células de levadura.....	96
3.5 Conclusiones.....	98
3.6 Bibliografía.....	100

Capítulo 4

Evolución dinámica de suspensiones celulares bajo la acción de un campo de radiofrecuencia

4.1 Introducción.....	101
4.2 Consideraciones teóricas.....	102
4.3 Métodos numéricos y simulación.....	107
4.5 Resultados.....	110
4.6 Cuantificación de resultados de estructuras de agregación.....	121
4.6.1 Función de correlación por pares.....	121
4.6.2 Parámetros de orden de un sistema de partículas.....	124
4.7 Conclusiones.....	127
4.8 Bibliografía.....	128

Apéndice

Modelos eléctricos de células biológicas y micropartículas

A.1 Introducción.....	131
A.2 Modelo de la célula de Neurospora Crassa.....	131
A.3 Modelo de la célula de levadura.....	134
A.3.1 Parámetros dieléctricos de la levadura.....	137
A.3.2 Valores empleados en el modelo de la levadura.....	138
A.4 Modelo de la partícula de poliestireno.....	139
A.5 Bibliografía.....	143

AGRADECIMIENTOS

Agradecimientos

Muchas son las personas que de un modo u otro han contribuido a la realización de esta tesis. A todas ellas, aunque a mi pesar queden en el anonimato, quiero agradecerles su ayuda.

Especialmente quiero agradecer el apoyo brindado por mis padres en todos los aspectos; y por el Dr. D. Miguel Sancho, mi director de tesis, no solamente por su consejo académico, fundamental en la consecución de los objetivos, sino principalmente por su afecto y cordialidad que han hecho que el trabajo a lo largo de estos años haya sido un placer. También quisiera agradecerles a las Dra. Dña. Margarita Llamas y Dra. Dña. Genoveva Martínez con quienes he tenido el privilegio de trabajar mano a mano, el soporte científico y humano que en todo momento me han dedicado.

Así mismo, estoy profundamente agradecido a todos los miembros de los grupos de microondas y colisiones atómicas del dpto. de Física Aplicada III, y en especial al Prof. José Luis Sebastián, al Prof. José Juan Jiménez, al Dr. D. José Miguel Miranda, a la Dra. Dña. Sagrario Muñoz y al Dr. D. José Javier Domínguez por su amistad y ayuda que me han facilitado el trabajo en innumerables ocasiones.

Finalmente expreso mi agradecimiento al Prof. R. Pethig y al Dr. R.S. Lee por su gran ayuda y cordialidad durante mi estancia en su laboratorio en la Universidad de Gales, Bangor.

OBJETIVOS E INTERES

DE

LA TESIS

La dielectroforesis se define como el movimiento de materia eléctricamente neutra bajo la acción de un campo eléctrico no uniforme. Aunque este fenómeno es conocido desde antaño (año 600 a.C.), no ha sido hasta la segunda mitad del presente siglo que se ha comenzado un estudio y caracterización sistemáticos del mismo.

El estudio de los fenómenos dielectroforéticos presenta varios dominios bien diferenciados aunque interrelacionados. Por un lado están los aspectos fundamentales del estudio físico de la interacción entre campos electromagnéticos y cuerpos dieléctricos, por otro lado encontramos características tecnológicas en el análisis y desarrollo de las posibles aplicaciones que las leyes obtenidas a partir del punto previo pudieran sugerir.

En lo concerniente al primer aspecto nos encontramos con el estudio de fenómenos fundamentales de la electrodinámica, debemos cubrir desde la comprensión de mecanismos de polarización a la resolución de problemas de potencial. Uno de los problemas clásicos a este respecto fue el análisis de fuerzas ejercidas por campos electromagnéticos sobre medios materiales disipativos. Durante más de una década, los científicos dedicados a este campo trabajaron en una formulación que permitiera el tratamiento teórico del uso y manipulación que llevaban a cabo con cuerpos y sistemas con conductividades nada despreciables y por lo tanto con pérdidas, lo que les impedía el uso de formulaciones basadas en el principio de conservación de la energía. Durante bastantes años se utilizaron soluciones erróneas al problema, reflejadas en las publicaciones internacionales y admitidas incluso por los científicos más prestigiosos del campo. El cálculo de fuerzas en estos trabajos se basaba en el principio de trabajos virtuales, lo que es incorrecto para un sistema con pérdidas. El problema había sido ya mencionado

por Landau y resuelto por Sauer de manera correcta y consistente, mediante una nueva aproximación al problema a través del tensor electromagnético de Maxwell y la conservación del momento lineal. Esta formulación es de gran complejidad tanto conceptual como matemática lo cual hace que su comprensión sea muy ardua para científicos no acostumbrados a los tratamientos matemáticos complejos pero a la vez interesados e introducidos en el campo de la dielectroforesis, tal es el caso de numerosos biólogos y fisiólogos que utilizan la dielectroforesis como una herramienta de manipulación microbiológica y caracterización celular; quizá por esto el error de la teoría previa pervivió en buena parte de la bibliografía posterior a la solución correcta del problema.

El primer objetivo de esta tesis ha sido una revisión y reformulación de la citada teoría a través de la introducción de un potencial efectivo, con el fin de ofrecer una presentación más clara y simplificada aunque igualmente potente que la original. De esta manera se consigue que su comprensión y utilización posterior para el análisis de diversos sistemas de interés sea más fácil y asequible.

Una vez se hubo conseguido una formulación correcta para el problema de fuerzas electromagnéticas en medios disipativos se prestó considerable atención a la fuerza que un campo eléctrico no uniforme ejerce sobre una partícula, principalmente debido a sus aplicaciones en manipulación celular.

En la bibliografía sobre dielectroforesis abundan los trabajos teóricos sobre el efecto de un campo eléctrico sobre una célula aislada, así como los estudios experimentales de suspensiones coloidales de micropartículas bajo la acción de campos de radiofrecuencia, debido principalmente a sus aplicaciones en manipulación celular microbiológica.

Sin embargo, se ha descuidado el análisis teórico de estos sistemas multipartículas, debido fundamentalmente a la complejidad de las interacciones múltiples, tanto de unas partículas con otras como de las partículas con el medio circundante. Así, el segundo objetivo de esta tesis es el estudio del comportamiento de suspensiones celulares bajo la acción de campos eléctricos de radiofrecuencia. Un primer interés de este estudio es conocer el efecto que tienen las pérdidas presentes en el sistema durante la evolución del mismo, ya que hasta el momento no existía ningún estudio de suspensiones en el que se consideraran los aspectos disipativos de las mismas. También se analiza en este trabajo la influencia de diversos parámetros característicos del sistema como son la intensidad y frecuencia del campo aplicado y la concentración de partículas en la suspensión, cuyos efectos no habían sido analizados con anterioridad. Al mismo tiempo se establece el objetivo de entender el fundamento físico de ciertos comportamientos anómalos observados en suspensiones binarias a principios de los años 70 y que permanecían sin una explicación satisfactoria. En el desarrollo del trabajo fueron surgiendo nuevos intereses y objetivos tales como el estudio de fenómenos de agregación en suspensiones de partículas elipsoidales como una mejor aproximación a diversos tipos de biopartículas, lo cual presenta una novedad en este campo con resultados interesantes, así como el análisis detallado de la evolución temporal de los mencionados sistemas.

Aunque ya se han publicado trabajos preliminares sobre este tipo de sistemas, nuestro estudio presenta avances importantes como son la introducción de las pérdidas del sistema, y la utilización de células biológicas. Las células son partículas de estructura compleja que requieren una modelización física mucho

más elaborada que la de las partículas sintéticas utilizadas en los trabajos anteriores.

Aunque el trabajo se enfoca desde un punto de vista esencialmente básico, el estudio de estos sistemas puede tener importantes aplicaciones en el campo de la electrorreología así como en el de la manipulación celular como puede ser el caso de la electrofusión. Hoy en día ya existen algunas aplicaciones avanzadas de la dielectroforesis para la manipulación de microorganismos, tal es el caso de la factoría o microchip biológico desarrollado en la universidad de Gales (Bangor), por el equipo del Prof. R. Pethig con quién tuve el placer de colaborar. Una presentación del mencionado chip que muestra toda la potencialidad de la dielectroforesis como técnica se puede ver en: <http://www.sees.bangor.ac.uk/>.

He tenido la oportunidad de entrar en contacto en congresos internacionales con ingenieros de diferentes campos, que utilizan la dielectroforesis de manera empírica con diversas finalidades, como por ejemplo para el diseño de analizadores de aire con fines medio ambientales, o de sistemas de separación de mena y ganga o petróleo y agua en minería. Todos ellos me han comentado que les sería de crucial importancia la consecución de una mejor y más profunda comprensión de las leyes que rigen el comportamiento de los sistemas de micropartículas en interacción bajo la acción de campos de radiofrecuencia. Este es en definitiva el propósito de esta tesis, verter luz en la medida de lo posible sobre el conjunto de fenómenos mencionados, con la esperanza de que esto sea de utilidad y ayuda al colectivo de científicos involucrados en este campo.

PUBLICACIONES

PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES A QUE HA DADO LUGAR ESTA TESIS

Autores: V. Giner, M. Sancho y G. Martínez

Electromagnetic forces on dissipative dielectric media

Am. J. Phys. 63 (8), August (1995)

Autores: M. Sancho, V. Giner y G. Martínez

Monte Carlo simulation of dielectrophoretic particle chain structures

Phys. Rev. E 55, 544 (1997)

Autores: M. Llamas, V. Giner y M. Sancho

Dynamic evolution of cell chaining in a biological suspension induced by an electric field: A Brownian dynamics simulation.

J. Appl. Phys. D: Appl. Phys. 31, 1-8 (1998)

Autores: V. Giner, M. Sancho, R.S. Lee, G. Martínez y R. Pethig

Transverse dipolar chaining in binary suspensions induced by R. F. fields

Aceptado para publicación en J. Appl. Phys. D

Autores: M. Sancho, V. Giner, G. Martínez y M. Llamas

Particle cluster configuration under electric fields

Inst. Phys. Conf. Ser. No 143 (1995)

PONENCIAS Y COMUNICACIONES EN CONGRESOS

Tipo de comunicación: C. Oral

Autores: M. Sancho, V. Giner, G. Martínez y M. Llamas

Particle Cluster Configuration under Electric Fields

Congreso: Electrostatics '95: 9th International Conference.

Lugar de celebración: York (Inglaterra) Año: (1995)

Tipo de comunicación: Poster

Autores: V. Giner, R. Peña y M. Sancho

Electroorientation and aggregation effects of ellipsoidal cells

Congreso: World Congress for Electricity & Magnetism in Biology and Medicine.

Lugar de celebración: Bolonia (Italia) Año: (1997)

Capítulo 1

FUERZAS ELECTROMAGNETICAS EN MEDIOS DIELECTRICOS DISIPATIVOS

1.1 Introducción

En la bibliografía sobre electromagnetismo, tanto de carácter básico como avanzado, siempre le ha sido dada importancia al cálculo de fuerzas eléctricas o magnéticas ejercidas sobre cuerpos materiales. Un método clásico para aproximarse a este problema es el basado en el principio de conservación de la energía a través del cálculo del trabajo realizado en un desplazamiento virtual del objeto [1-4]. Existen muchas circunstancias y sistemas físicos de interés en los que la conservación de la energía no es aplicable, debido a que el sistema bajo consideración es disipativo. En estas circunstancias es necesario el uso de una nueva estrategia basada en la conservación del momento generalizado. Recurriremos a la integración del tensor de tensiones electromagnéticas de Maxwell a través de la superficie del cuerpo para el cálculo de las fuerzas.

El tensor electromagnético de Maxwell es introducido en diversos textos de electromagnetismo avanzado, pero su exclusiva aplicación a la resolución de ejemplos muy sencillos, tales como el cálculo de la fuerza sobre una carga puntual, inducen la incorrecta impresión de que el tensor electromagnético de Maxwell es una mera curiosidad matemática, en vez de una potente herramienta analítica.

Son numerosas las aplicaciones técnicas basadas en la utilización de este tipo de fuerzas ponderomotrices, tales son el caso de: levitación [5], atrapamiento electromagnético [6] y concentración y manipulación dielectroforética de partículas [7,8], muchas de ellas técnicas realmente novedosas de reciente aparición.

Es necesario darse cuenta que incluso en el caso de campos cuasiestáticos, el principio de trabajo virtual carece de validez para medios dieléctricos o magnéticos reales,

en los que siempre hay presentes pérdidas, aunque sea en grado mínimo. El problema fue descrito por Landau [6] y resuelto por Sauer [9] usando el tensor de Maxwell para el caso de una partícula esférica inmersa en un fluido.

En este capítulo se desarrolla una formulación alternativa más sencilla que facilita su uso en su caso general. Esta establece la expresión de la fuerza neta que actúa sobre un cuerpo dieléctrico inmerso en un campo electromagnético en términos de una integral a través de la superficie que limita el cuerpo, o alternativamente, como una integral de superficie extendida a ambos lados de la interfase entre el cuerpo y el medio externo. Esta formulación permite la consideración de las pérdidas del medio a través de la introducción de permitividades complejas. Se desarrollará la teoría y se ilustrará con resultados representativos obtenidos de la aplicación de la teoría a sistemas concretos de interés. Tales son el caso del ascenso de un fluido entre dos placas paralelas sometidas a una diferencia de potencial armónica, o la fuerza sobre una partícula esférica en un campo eléctrico no uniforme. Restringiremos nuestra discusión al caso fuerzas eléctricas sobre dieléctricos. El desarrollo de la teoría es general, y puede ser extendido para el caso de medios magnéticos, o incluir las pérdidas por histéresis.

1.2 Esfuerzos en medios disipativos

Si consideramos las relaciones de momento en un sistema compuesto por masa y un campo electromagnético, llegamos a la siguiente ecuación [1.3]:

$$\frac{d}{dt} \left[p_i + \int_v S_i dv \right] = \int_s T_{ij} n_j ds \quad (1.1)$$

En esta ecuación se expresa la conservación del momento total del sistema, siendo p_i las componentes del momento mecánico, S_i las del vector de Poynting, y T_{ij} las componentes del tensor de tensiones electromagnéticas de Maxwell; S es la superficie que limita el volumen V del sistema.

Cuando las variaciones de los campos electromagnéticos son lentas (caso cuasiestático) las fuerzas ejercidas sobre un volumen finito de materia por el campo electromagnético pueden ser expresadas en términos de fuerzas que actúan sobre la superficie que encierra dicho volumen,

$$f_i = \int_S T_{ij} n_j ds \quad (1.2)$$

donde el tensor T_{ij} está definido para un medio material como

$$T_{ij} = \epsilon E_i E_j + \mu H_i H_j - \frac{1}{2} \delta_{ij} \left[E^2 \left(\epsilon - \eta \frac{d\epsilon}{d\eta} \right) + H^2 \left(\mu - \eta \frac{d\mu}{d\eta} \right) \right] \quad (1.3)$$

siendo ϵ , μ y η la permitividad, permeabilidad y densidad del medio, respectivamente. E_i y H_i representan las componentes de los vectores campo eléctrico y magnético. Los términos en forma de derivadas de la permitividad y la permeabilidad están asociados a la posible deformación del medio debido a las fuerzas ejercidas por el campo, y representan efectos de electrostricción y magnetostricción respectivamente. Estos efectos dan lugar a tensiones internas que producen cambios de presión locales en gases y líquidos sometidos a campos intensos, pero nunca contribuyen a la fuerza neta ejercida sobre el sistema [10].

Requiere especial consideración el caso de fuerzas sobre una interfase entre dos medios diferentes donde los campos en general pueden no estar bien definidos. En esta circunstancia se puede obtener la fuerza mediante la integración del tensor

electromagnético de Maxwell sobre una superficie cilíndrica, con sus bases orientadas paralelamente a la interfase a ambos lados de ésta, y separadas una pequeña distancia que se hace tender a cero. La fuerza viene dada por:

$$f_i = \int \left\{ \epsilon_2 E_{2i} E_{2j} - \epsilon_1 E_{1i} E_{1j} - \frac{1}{2} \delta_{ij} \left[E_2^2 \left(\epsilon - \eta \frac{d\epsilon}{d\eta} \right)_2 + E_1^2 \left(\epsilon - \eta \frac{d\epsilon}{d\eta} \right)_1 \right] \right\} n_j ds \quad (1.4)$$

Esta expresión se refiere exclusivamente a una interfase entre medios dieléctricos, existiendo una expresión análoga para la interfase entre medios magnéticos. En lo que sigue sólo consideraremos efectos eléctricos debidos al desplazamiento de cuerpos dieléctricos rígidos, omitiendo contribuciones magnéticas así como términos de electrostricción.

Un caso especialmente interesante es el que resulta de la aplicación de un campo eléctrico no uniforme de la forma $\vec{E}(\vec{r}, t) = \vec{E}_0(\vec{r}) \cdot e^{j\omega t}$ a un cierto volumen de material dieléctrico. La fuerza ejercida por el campo sobre dicho volumen homogéneo, promediada sobre un periodo, puede ser calculada a través de la generalización de las ecuaciones (1.2) y (1.4), donde además se ha utilizado la siguiente identidad que verifica el promedio temporal del producto de dos magnitudes armónicas complejas **a** y **b** :

$\text{Re}(\mathbf{a}) \overline{\text{Re}(\mathbf{b})} = \frac{1}{2} \text{Re}(\mathbf{a} \mathbf{b}^*)$. Resultan así las siguientes expresiones:

$$\bar{f}_i = \frac{1}{2} \text{Re} \int \left[\epsilon E_i E_j^* - \frac{1}{2} \delta_{ij} \epsilon |\mathbf{E}|^2 \right] n_j ds \quad (1.5)$$

y para el caso de una interfase:

$$\bar{f}_i = \frac{1}{2} \text{Re} \iint \left(\epsilon_2 E_{2i} E_{2j}^* - \epsilon_1 E_{1i} E_{1j}^* - \frac{1}{2} \delta_{ij} \left(\epsilon_2 |E_2|^2 - \epsilon_1 |E_1|^2 \right) \right) n_j ds \quad (1.6)$$

Las expresiones (1.5) y (1.6) son las ecuaciones básicas para el estudio de las fuerzas dielectroforéticas sobre la materia.

El uso de las ecuaciones de fuerza requiere el conocimiento de la forma explícita de las componentes del campo eléctrico, lo que hace necesario la solución previa del problema de contorno para los campos. Si la frecuencia del campo aplicado es lo suficientemente baja para que la longitud de onda sea mucho mayor que las dimensiones del sistema bajo estudio, de tal manera que los efectos de radiación puedan ser despreciados, entonces las ecuaciones de Maxwell cuasiestáticas tienen validez para dicho sistema. [11]. A partir de dichas ecuaciones podemos escribir:

$$\vec{\nabla} \cdot \vec{D} = \rho \quad (1.7)$$

$$\vec{\nabla} \times \vec{H} = \vec{J} + j\omega \vec{D} \quad (1.8)$$

junto con las relaciones constitutivas: $\vec{J} = \sigma \vec{E}$ y $\vec{D} = \epsilon \vec{E}$, donde suponemos ϵ y σ constantes en cada uno de los medios, de donde podemos deducir: $\vec{\nabla}(\sigma \vec{E}) = -j\omega \rho = -j\omega \vec{\nabla}(\epsilon \vec{E})$ lo que implica que: $\vec{\nabla} \cdot \vec{E} = 0$ y por lo tanto podemos utilizar la ecuación de Laplace en cada medio.

1.3 Aplicaciones de la teoría a sistemas concretos

Con el fin de ilustrar el modo de aplicación de las ideas que se han expuesto previamente, se investigarán las fuerzas ejercidas sobre diversos sistemas por campos de baja frecuencia.

1.3.1. Carga oscilante frente a un dieléctrico plano semi-infinito

Consideremos el caso de una carga puntual, cuyo valor oscila armónicamente en el tiempo, y que está cerca de un dieléctrico semi-infinito, caracterizado por una permitividad compleja. La distribución de campos se obtiene fácilmente aplicando el método de imágenes al caso del dieléctrico ideal sin pérdidas. Las cargas ficticias que solucionan el problema de contorno se muestran en la figura 1.1 y vienen dadas por:

$$q' = -\frac{\epsilon - \epsilon_0}{\epsilon + \epsilon_0} q, \quad q'' = \frac{2\epsilon}{\epsilon + \epsilon_0} q \quad (1.9)$$

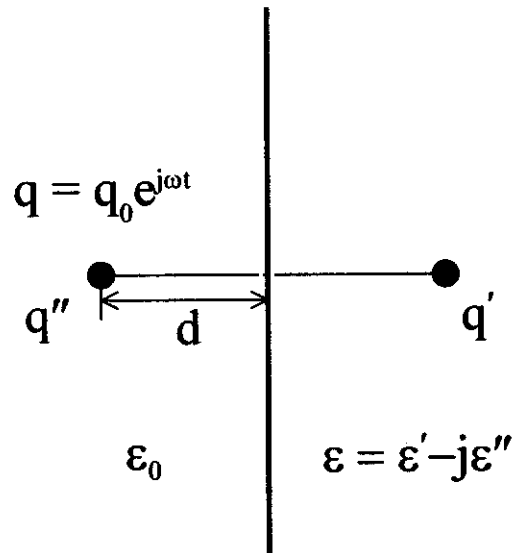


Figura 1.1. Cargas imágenes relativas a la frontera dieléctrico-vacío

Las cargas q y q' dan la distribución correcta de campos en la región conteniendo a q . La carga q'' produce la solución correcta en el semiespacio derecho ocupado por el dieléctrico.

La fuerza media transmitida por el campo a través de la interfase con el dieléctrico viene dada por la ecuación (1.6). En esta ecuación, E_1 y E_2 representan los campos totales a ambos lados de la interfase, y son calculados utilizando las cargas ficticias dadas en ecuación (1.9). La superficie que engloba el dieléctrico quedaría cerrada por una semiesfera de radio infinito sobre la cual los campos se anulan, y por lo tanto no se hace necesario considerarla en lo que a la integración concierne.

Debido a la simetría del sistema, la integración de las tensiones paralelas a la superficie se anula quedando únicamente, la contribución de las componentes normales a la interfase. Finalmente obtenemos la siguiente expresión para la fuerza media, en módulo, sobre la carga q :

$$\bar{f} = \frac{q_0^2}{32\pi\epsilon_0 d^2} \operatorname{Re} \left(\frac{\epsilon - \epsilon_0}{\epsilon + \epsilon_0} \right) \quad (1.10)$$

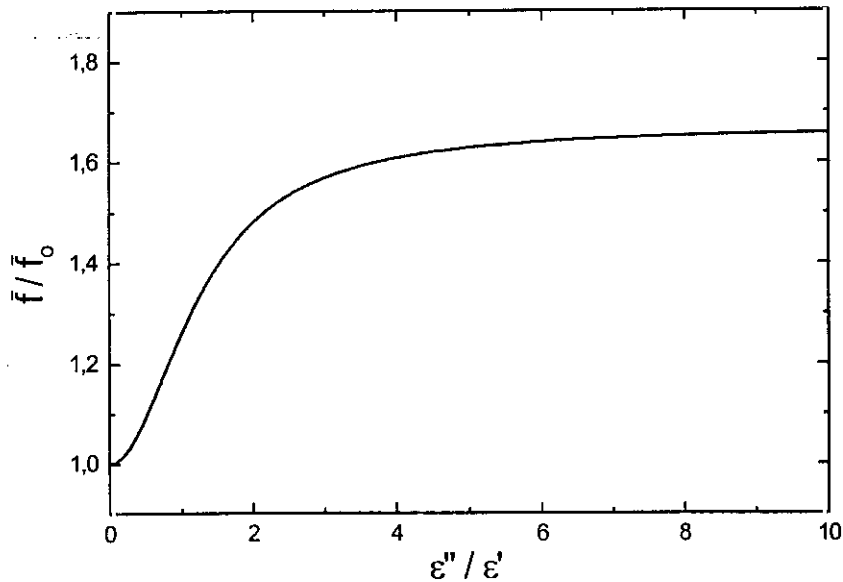


Figura 1.2. Fuerza relativa total sobre el semiespacio dieléctrico, como una función de las pérdidas dieléctricas. $\epsilon' = 4 \epsilon_0$.

En la figura 1.2 se muestra la fuerza ejercida sobre la interfase dieléctrica. Se ha representado el cociente entre la fuerza para un caso un caso real y la correspondiente al dieléctrico sin pérdidas. La fuerza relativa para el límite de pérdidas altas, $\frac{\bar{f}_\infty}{\bar{f}_0} = \frac{\epsilon' + \epsilon_0}{\epsilon' - \epsilon_0}$, puede ser muy diferente de la unidad.

1.3.2 Elevación de un líquido entre dos placas paralelas cargadas

Otra aplicación a un sistema interesante es la fuerza sobre un líquido entre las placas de un condensador, como se muestra en el esquema de la figura 1.3.

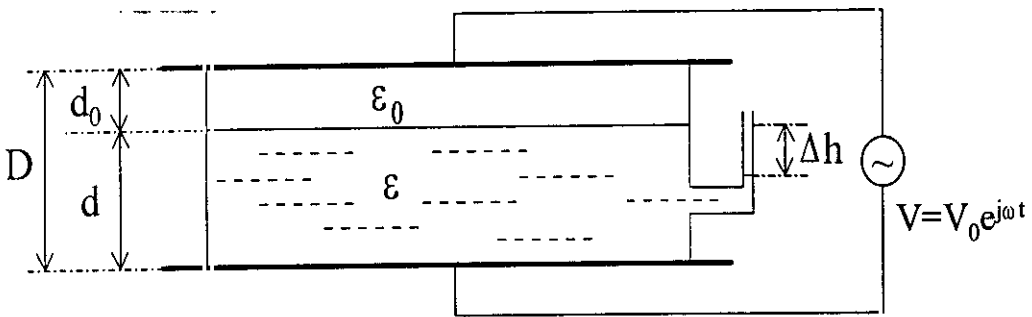


Figura 1.3. Diagrama esquemático de una celda con un líquido conductor entre sus electrodos. Cuando un voltaje alterno es aplicado entre sus placas, se induce una diferencia de nivel entre sus dos ramas.

Se tiene un líquido conductor caracterizado por una permitividad compleja ϵ , entre dos electrodos planos y paralelos horizontales. No se toman en consideración los efectos de menisco en la parte superior del líquido. La parte imaginaria de la permitividad, debida a la conductividad del medio σ , tal que $\epsilon'' = \sigma/\omega$, depende de la frecuencia ω . Cuando un voltaje alterno de la forma $V_0 e^{j\omega t}$ es aplicado a ambas placas, el líquido tiende a subir de nivel. Esto es debido al empuje que las moléculas de fluido polarizadas ejercen al tratar de entrar en las zonas de campo más intenso, desde el brazo lateral que hace las funciones de reserva de líquido. En una aproximación de placas infinitas, aceptable en el caso en el que la superficie de las mismas sea mucho mayor que la distancia que las separa, los campos en el aire y en el líquido vienen dados por:

$$E_0 = \frac{\epsilon}{\epsilon_0 d + \epsilon d_0} V_0 \quad , \quad E = \frac{\epsilon_0}{\epsilon_0 d + \epsilon d_0} V_0 \quad (1.11)$$

Por lo tanto, de acuerdo con la ecuación (1.6), la presión eléctrica que es compensada por una presión hidrostática debida a la elevación del fluido debe ser:

$$P = \frac{1}{4} \text{Re}(\epsilon_0 |E_0|^2 - \epsilon |E|^2) = \frac{1}{4} V_0^2 \frac{\epsilon_0 |\epsilon|^2 - \epsilon' \epsilon_0^2}{\epsilon_0^2 d^2 + 2\epsilon_0 \epsilon' d_0 d + |\epsilon|^2 d_0^2} = \eta g \Delta h \quad (1.12)$$

con: $d = d_i + \frac{\Delta h}{1 + S/s}$ y $d_0 = D - d$, siendo d_i la altura inicial del líquido cuando no hay voltaje aplicado, y S, s las superficies de las secciones del recipiente principal y el brazo lateral respectivamente. La solución de la ecuación (1.12) para Δh está representada en la figura 1.4 como una función de la frecuencia. Los valores de permitividad y conductividad tomados como datos corresponden a una suspensión acuosa con una ligera conductividad. Se muestra la transición desde valores de frecuencia baja, donde la respuesta está

dominada por la conductividad, hasta altas frecuencias donde los efectos disipativos son despreciables.

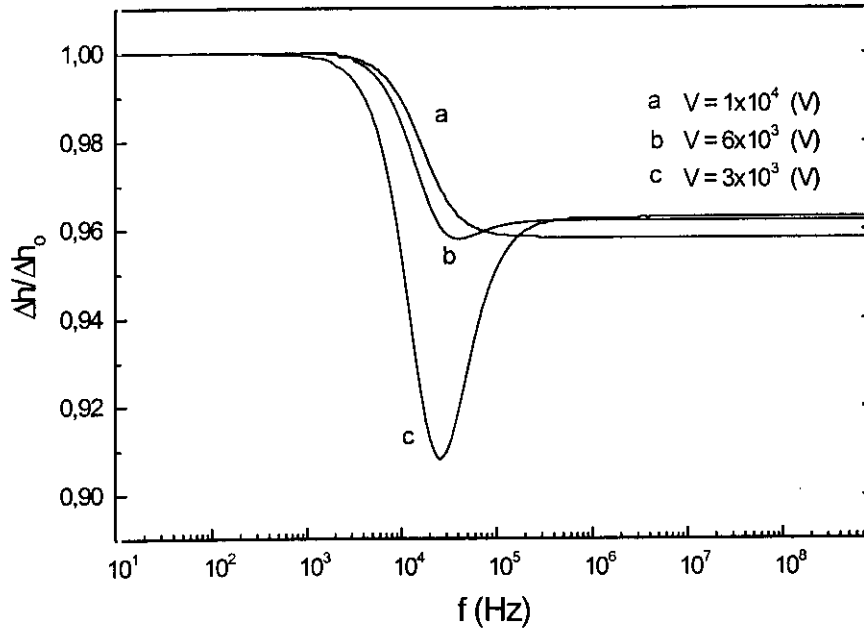


Figura 1.4. Diferencia de nivel, normalizado como una función de la frecuencia, para un líquido con $\epsilon' = 80 \epsilon_0$, $\sigma = 10^{-4} \Omega^{-1} \text{m}^{-1}$. Δh_0 es el valor asintótico a frecuencia nula.

1.3.3 Fuerza sobre una partícula esférica situada en un campo no uniforme

Consideremos una pequeña partícula de radio a , caracterizada por una permitividad compleja ϵ_2 , inmersa en un dieléctrico de permitividad compleja ϵ_1 . Supongamos que la partícula está bajo la acción de un campo de radiofrecuencia creado por dos electrodos de geometría arbitraria separados una distancia d , y supondremos que se cumple la condición

de que $a \ll d \ll \lambda$ (siendo λ la longitud de onda del campo) de tal manera que los campos pueden ser considerados cuasiestáticos.

El campo producido por los electrodos debe ser inhomogéneo para poder dar lugar a una fuerza neta; éste es un ejemplo de configuración que se utiliza para en la recolección dielectroforética de partículas suspendidas en un líquido [7]. Usualmente las partículas se mueven hacia los máximos de intensidad de campo, pero en determinadas condiciones, por el contrario, pueden hacerlo hacia los mínimos de intensidad (dielectroforesis negativa). En estos casos el efecto físico es entendido como una especie de flotación, debida a la diferencia de fuerzas con los dipolos del medio externo que son atraídos hacia las zonas de mayor intensidad con mayor eficacia.

Las componentes del campo externo pueden ser expresadas en la aproximación del gradiente como:

$$E_x = E_{0x} + \left(\frac{\partial E_x}{\partial x} \right)_0 \Delta x + \left(\frac{\partial E_x}{\partial y} \right)_0 \Delta y + \left(\frac{\partial E_x}{\partial z} \right)_0 \Delta z$$

con expresiones análogas para las componentes y, z. Esta expresión la podemos escribir de forma más compacta, tomando como origen el centro de la partícula esférica y evaluándolo sobre la superficie:

$$\vec{E} = \vec{E}_0 + \left(\vec{\nabla} \otimes \vec{E} \right)_0 \cdot \vec{r}_s \quad (1.13)$$

donde \otimes representa el producto diádico y \vec{r}_s es un vector que va del centro de la partícula a cualquier punto de la superficie; el subíndice 0 indica que tanto el campo como las derivadas que constituyen la matriz producto diádico de nábla con el campo son evaluadas en el centro de la partícula. Por simplicidad, a partir de ahora se considerará simetría axial.

Con el fin de obtener la distribución de campos, se desarrolla la solución general de la ecuación de Laplace en serie de potencias de r y polinomios de Legendre, tanto para la región interior como para la exterior a la partícula:

$$\phi_1 = \sum_{n=0}^{\infty} (A_n r^n + B_n r^{-(n+1)}) P_n(\cos \theta) \quad r \geq a \quad (1.14)$$

$$\phi_2 = \sum_{n=0}^{\infty} (C_n r^n + D_n r^{-(n+1)}) P_n(\cos \theta) \quad r < a \quad (1.15)$$

Imponiendo las condiciones de contorno:

- (i) $\phi_2|_{r=0}$ acotado
- (ii) Continuidad del potencial en la interfase: $\phi_1|_{r=a} = \phi_2|_{r=a}$
- (iii) Continuidad de la componente normal del campo: $\epsilon_1 \left(\frac{\partial \phi_1}{\partial r} \right)_{r=a} = \epsilon_2 \left(\frac{\partial \phi_2}{\partial r} \right)_{r=a}$
- (iv) Regularidad en el infinito: $\phi_1|_{r \rightarrow \infty} \rightarrow -E_0 r \cos \theta + G r^2 P_2(\cos \theta) + H r^3 P_3(\cos \theta) + \dots$

La perturbación debida a la esfera debe desaparecer, tendiendo a la forma general para el campo no uniforme.

De las tres primeras condiciones obtenemos la siguiente expresión para los coeficientes:

$$A_n = 0, \quad n > 2; \quad (1.16)$$

$$C_n = -\frac{\epsilon_1(2n+1)}{n(\epsilon_1 + \epsilon_2) + \epsilon_1} A_n \quad (1.17)$$

$$B_n = \frac{(\epsilon_1 - \epsilon_2) n a^{2n+1}}{n(\epsilon_1 + \epsilon_2) + \epsilon_1} A_n \quad (1.18)$$

$$D_n = 0 \quad (1.19)$$

Si ahora imponemos la cuarta condición podemos despejar los coeficientes para los diferentes órdenes:

$$n=1: A_1 = -E_0 \Rightarrow C_1 = -\frac{3\epsilon_1}{2\epsilon_1 + \epsilon_2} E_0 \quad ; \quad B_1 = \frac{(\epsilon_1 - \epsilon_2)a^3}{2\epsilon_1 + \epsilon_2} E_0$$

$$n=2: A_2 = G \Rightarrow C_2 = \frac{5\epsilon_1}{3\epsilon_1 + 2\epsilon_2} G \quad ; \quad B_2 = \frac{2(\epsilon_1 - \epsilon_2)a^5}{3\epsilon_1 + \epsilon_2} G$$

.....

El problema ahora es asociar los coeficientes G , H y los sucesivos que van apareciendo en el desarrollo, con magnitudes asociadas al campo inhomogéneo aplicado. Con este fin lo que se hará es obtener el campo a partir del potencial e identificar términos posteriormente.

Para la identificación de G partimos de : $\phi = -E_0 r \cos \theta + Gr^2 \frac{1}{2} (3 \cos^2 \theta - 1)$.

Pasando a cartesianas y calculando el campo obtenemos:

$$E_x = -\frac{\partial \phi}{\partial x} = Gx$$

$$E_y = -\frac{\partial \phi}{\partial y} = Gy$$

$$E_z = -\frac{\partial \phi}{\partial z} = E_0 - 2Gr \cos \theta$$

Volviendo a derivar encontramos la equivalencia buscada:

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial E_x}{\partial x} & \frac{\partial E_x}{\partial y} & \frac{\partial E_x}{\partial z} \\ \frac{\partial E_y}{\partial x} & \frac{\partial E_y}{\partial y} & \frac{\partial E_y}{\partial z} \\ \frac{\partial E_z}{\partial x} & \frac{\partial E_z}{\partial y} & \frac{\partial E_z}{\partial z} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} G & 0 & 0 \\ 0 & G & 0 \\ 0 & 0 & -2G \end{pmatrix} = (\vec{\nabla} \otimes \vec{E})$$

De esta manera obtenemos:

$$A_z = \left(\frac{\partial E_x}{\partial x} \right)_0 = \left(\frac{\partial E_y}{\partial y} \right)_0 = -\frac{1}{2} \left(\frac{\partial E_z}{\partial z} \right)_0 \quad (1.20)$$

Para obtener el coeficiente H, incluimos el siguiente término del desarrollo:

$$\phi = -E_0 r \cos \theta + Gr^2 \frac{1}{2} (3 \cos^2 \theta - 1) + H \frac{r^3}{2} (5 \cos^3 \theta - 3 \cos \theta)$$

Siguiendo el procedimiento anterior y ocupándonos únicamente del término añadido, derivamos tres veces obteniendo únicamente como términos no nulos.

$$\begin{pmatrix} \frac{\partial^2 E_x}{\partial x^2} & \frac{\partial^2 E_x}{\partial x \partial y} & \frac{\partial^2 E_x}{\partial x \partial z} \\ \frac{\partial^2 E_y}{\partial x \partial y} & \frac{\partial^2 E_y}{\partial y^2} & \frac{\partial^2 E_y}{\partial y \partial z} \\ \frac{\partial^2 E_z}{\partial x \partial z} & \frac{\partial^2 E_z}{\partial y \partial z} & \frac{\partial^2 E_z}{\partial z^2} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 3H \\ 0 & 0 & 3H \\ 3H & 3H & -6H \end{pmatrix} = \nabla \cdot (\nabla \otimes \mathbf{E})$$

$$\text{Así, } H = \frac{1}{3} \frac{\partial^2 E_z}{\partial x \partial z} = \frac{1}{3} \frac{\partial^2 E_y}{\partial y \partial z} = -\frac{1}{6} \frac{\partial^2 E_z}{\partial z^2} \text{ y continuando el proceso, se obtendrían todos}$$

los términos del desarrollo de la solución del potencial, en función del desarrollo del campo inhomogéneo aplicado.

Una vez solucionado el problema de la distribución de campos, podemos interesarnos por la fuerza neta que experimenta la partícula, debido a las tensiones a través de su superficie y que obedecen a la ecuación (1.6). Debido a la simetría axial la fuerza resultante debe estar dirigida a lo largo del eje-z y vendrá dada por:

$$\vec{f} = \int_s (P_n \cos \theta - P_t \sin \theta) ds \quad (1.21)$$

donde P_n y P_t son las componentes de la fuerza por unidad de superficie, normal y tangencial a la interfase respectivamente, y que vienen dadas por:

$$P_n = \frac{1}{4} \text{Re} \left\{ \epsilon_2 \left(|E_{2r}|^2 - |E_{2\theta}|^2 \right) - \epsilon_1 \left(|E_{1r}|^2 - |E_{1\theta}|^2 \right) \right\} \quad (1.22)$$

$$P_t = \frac{1}{2} \text{Re} \left\{ \epsilon_2 E_{2\theta} E_{2r}^* - \epsilon_1 E_{1\theta} E_{1r}^* \right\} \quad (1.23)$$

La componente tangencial P_t se anulará para el caso de un medio exterior sin pérdidas. La integración de la ecuación (1.21), tras la sustitución explícita de las expresiones (1.22) y (1.23) da como resultado para la fuerza promedio sobre la partícula.

$$\bar{\mathbf{f}} = \frac{1}{2} \alpha_{\text{ef}} \nabla E^2 \quad (1.24)$$

con la polarizabilidad efectiva

$$\alpha_{\text{ef}} = 3V \epsilon_1' \text{Re} \left\{ \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} \right\} \quad (1.25)$$

donde E es el valor eficaz del campo alterno y V el volumen de la partícula.

Este resultado muestra que la esfera responde al campo externo no uniforme, en esta primera aproximación, como lo haría un dipolo. La polarizabilidad efectiva de la partícula viene dada por la expresión (1.25), y es importante destacar que para el caso de medios con pérdidas, esta polarizabilidad efectiva puede ser positiva, negativa o nula, dependiendo de los valores de ϵ_1 y ϵ_2 . Por ejemplo para el caso de una burbuja en un dieléctrico líquido, la polarizabilidad efectiva es negativa, lo que quiere decir que la burbuja será atraída hacia las regiones de campo menos intenso, caso de dielectroforesis negativa.

En la figura 1.5 se representa la polarizabilidad efectiva de una esfera dieléctrica con pérdidas como una función de la frecuencia.

Se ha comentado a lo largo del capítulo la existencia de un error histórico en el tratamiento de fuerzas en medios disipativos basado en la aplicación del principio de los

trabajos virtuales; en la figura 1.6 se muestra una comparación entre los resultados provenientes de la antigua teoría y la nueva, corregida para el factor de polarizabilidad de una esfera dieléctrica inmersa en un medio dieléctrico. Los resultados discrepan en la región de baja frecuencia, dando la fórmula obtenida mediante conservación de la energía una estimación muy alejada del valor correcto en ese rango.

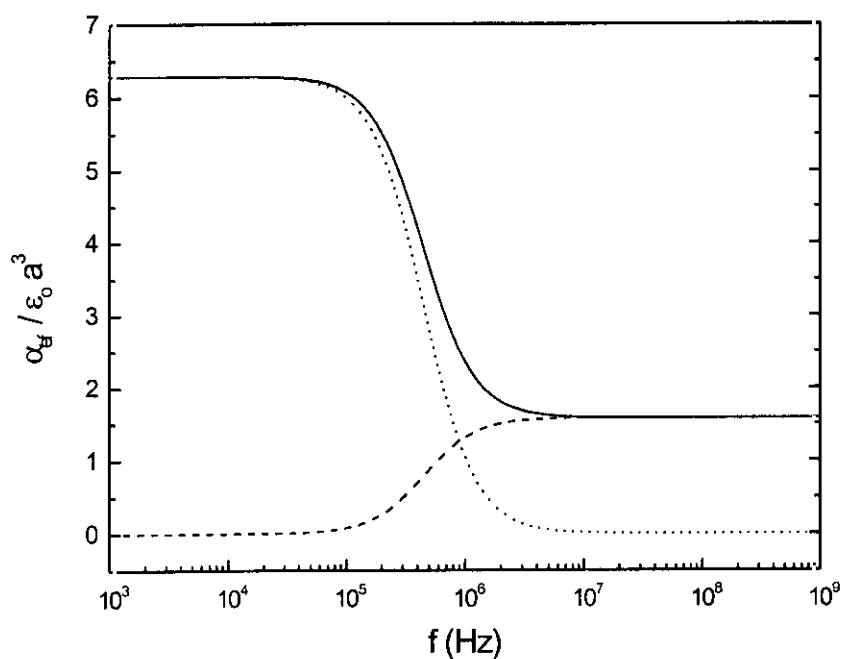


Figura 1.5. Polarizabilidad efectiva de una esfera dieléctrica con pérdidas. Las curvas rayadas y punteadas representan las contribuciones parciales a la polarizabilidad de las cargas de polarización y reales, respectivamente (vease apartado 1.4). La línea continua es la polarizabilidad total. La permitividad y la conductividad de la partícula son: $\epsilon = 2\epsilon_0$; $\sigma = 10^{-4} \Omega^{-1} \text{m}^{-1}$.

La polarizabilidad se reduce considerablemente para frecuencias altas.

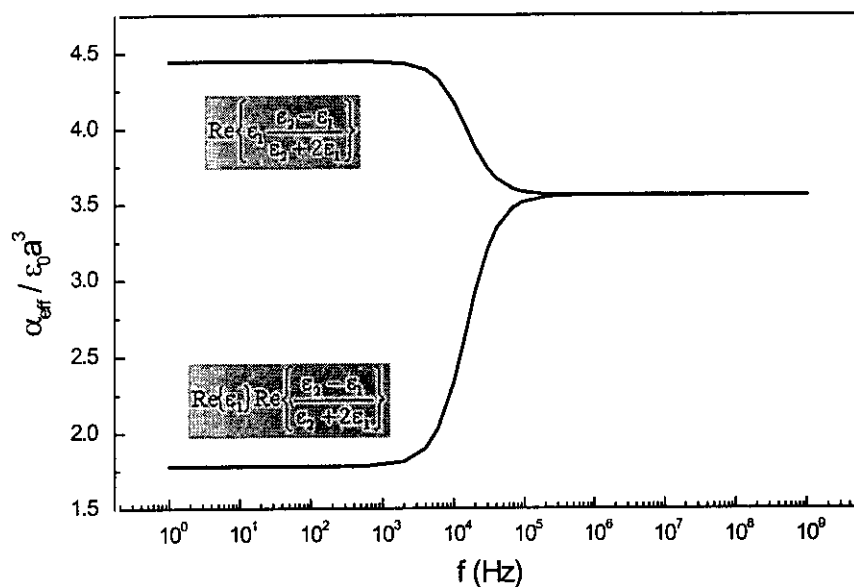


Figura 1.6. Se muestra el factor de polarizabilidad efectiva para una esfera los parámetros son: $\epsilon_1 = \epsilon_0$; $\epsilon_2 = 2 \epsilon_0$, $\sigma_1 = 10^{-4}$, ; $\sigma_2 = 4 \sigma_1$; (—) Cálculo correcto, (---) Cálculo incorrecto, basado en el método de trabajos virtuales.

1.4 Discusión

En este capítulo se ha descrito un método para el cálculo de fuerzas ejercidas por campos eléctricos de variación lenta sobre dieléctricos con pérdidas, mediante el uso del tensor de tensiones de Maxwell. Los resultados mostrados en las figuras 1.2, 1.4 y 1.5 muestran que existen notables diferencias con el caso de un dieléctrico no disipativo; las fuerzas obtenidas pueden ser mayores o menores dependiendo del caso. Es interesante el hecho de que se pueden alcanzar estados de equilibrio estable bajo la única acción de fuerzas eléctricas. El teorema de Earnshaw establece la imposibilidad de que una carga eléctrica alcance el equilibrio estable excepto sobre la superficie de electrodos; la misma

restricción se extiende a dipolos, con energía potencial $U = -\vec{p} \cdot \vec{E}$ si es un dipolo rígido ó $U = -\frac{1}{2} \vec{p} \cdot \vec{E}$, para el caso de dipolos inducidos y está basada en la imposibilidad de máximos de intensidad de campo en regiones libres de carga. Sin embargo, sí pueden existir mínimos locales para ciertas configuraciones de campo, y por lo tanto las partículas que tengan una polarizabilidad efectiva negativa sí pueden quedar confinadas de manera estable en estos mínimos.

Es ilustrativo desde un punto de vista físico interpretar estas fuerzas en términos de la acción del campo sobre cargas libres y de polarización. Consideremos la interfase entre el vacío y un dieléctrico con pérdidas; en ésta encontramos cargas equivalentes o de polarización dadas por, $\tau_p = P_n = (\epsilon' - \epsilon_0)E_n$. También se produce un acúmulo de carga libre en la interfase, debido a la diferencia de conductividades entre ambos medios, $\sigma E_n = \frac{\partial \tau_t}{\partial t} = j\omega \tau_t$ de donde $\tau_t = -\frac{j\sigma}{\omega} E_n$. Se puede ver que existe un desfase de 90° entre ambas densidades de carga. La fuerza que ejerce el campo sobre estas densidades de carga, promediada sobre un periodo, viene dada por:

$$\bar{f}_i = \frac{1}{2} \text{Re} \int (\tau_p + \tau_t) E_{oi}^* ds$$

donde E_0 es el campo producido por fuentes externas al dieléctrico.

Para aclarar esta idea, consideremos el caso de una esfera dieléctrica en el vacío, bajo la influencia de un campo eléctrico no uniforme E_0 . Las densidades de carga libre y de polarización sobre la superficie, vienen dadas en primera aproximación por:

$$\tau_p = \frac{3\epsilon_0(\epsilon' - \epsilon_0)}{\epsilon + 2\epsilon_0} E_0 \cos \theta$$

$$\tau_t = -j \frac{3\epsilon_0 \epsilon''}{\epsilon + 2\epsilon_0} E_0 \cos \theta$$

Estas densidades de carga, dan lugar a momentos dipolares equivalentes,

$$\bar{p}_p = 4\pi\epsilon_0 \frac{\epsilon' - \epsilon_0}{\epsilon + 2\epsilon_0} a^3 \bar{E}_0$$

$$\bar{p}_t = -j4\pi\epsilon_0 \frac{\epsilon''}{\epsilon + 2\epsilon_0} a^3 \bar{E}_0$$

La fuerza total que el campo ejerce sobre estos dipolos es:

$$\bar{f} = \frac{1}{2} \text{Re} \left\{ \left((\bar{p}_t + \bar{p}_p) \bar{\nabla} \right) \cdot \bar{E}_0^* \right\}$$

que da el mismo resultado que la ecuación (1.24). En la figura 1.5 se muestran las contribuciones parciales de cada tipo de polarización a la polarizabilidad efectiva, y su dependencia con la frecuencia.

Hemos discutido las discrepancias existentes acerca de la expresión correcta para la fuerza media sobre una partícula con pérdidas en un campo alterno. Hemos demostrado que, en primera aproximación, la fuerza es equivalente a la que actúa sobre un dipolo con polarizabilidad efectiva dada por la ecuación (1.25). Es interesante observar que la expresión de la fuerza media coincide con la que se obtendría de la aplicación de la regla del promedio sobre un producto de fasores,

$$\bar{f} = \frac{1}{2} \text{Re} (\bar{p} \bar{\nabla}) \bar{E}^* \quad (1.26)$$

donde \bar{p} es el momento dipolar complejo

$$\bar{p} = 4\pi a^3 \epsilon_1 \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} \bar{E}$$

El importante resultado, dado por la ecuación (1.26), que puede generalizarse a cualquier tipo de partícula en aproximación dipolar, aunque formalmente similar, es sin embargo muy diferente al obtenido erróneamente mediante el principio de trabajos virtuales como hemos visto en la figura 1.6.

1.5 Bibliografía

1. R. Feynman, R. B. Leighton, and M. Sands, *The Feynman Lectures on Physics*, Addison-Wesley, Reading, MA, Cap. 10, (1964).
2. L.D. Landau and E.M. Lifshitz, *Electrodynamics of Continuous media*, Wiley, New York, Cap. 2, (1960).
3. Stratton, *Electromagnetic Theory*, McGraw-Hill, New York, (1941).
4. Jackson, *Classical Electrodynamics*, 2nd, ed. Wiley, New York, Cap. 4, (1962).
5. Brandt, *Levitation in Physics*, Science 243, 349-355, (1988).
6. X and J. M. Dziedzic, *Optical trapping and manipulation of bacteria*, Science 235, 1517-1520, (1987).
7. H. R. Pohl, *Dielectrophoresis* Cambridge University Press, London, (1978).
8. Y. Huang, X. Wang, and J. P. H. Burt, *Positive and negative dielectrophoretic collection of colloidal particles using interdigitated castellated microelectrodes* J. Phys. D: Appl. Phys. 24, pp. 881-888, (1992).

- 9 F. A. Sauer, *Forces on suspended particles in the electromagnetic field*, Coherent Excitations in Biological Systems, H. Frohlich and F. Kremer, ed. Springer, Berlin, , pp. 134-144, (1983).
- 10 R. Becker, *Electromagnetic fields and interactions*, Blackie, London, 1964, pp.169.
- 11 R.M. Fano, L.J. Chu, and R.B. Adler, *Electromagnetic Fields, Energy and Forces*, Wiley, New York, pp 354-356, (1963).
- 12 T.B. Jones and G. W. Bliss, *Bubble dielectrophoresis* J. Appl. Phys. 48, pp. 1412-17, (1977).

Capítulo 2

AGREGACION DIELECTROFORETICA DE PARTICULAS. UNA SIMULACION DE MONTECARLO

2.1 Introducción

La agregación de partículas formando cadenas, bajo la acción de campos de radiofrecuencia es un fenómeno bien conocido, que ha sido investigado en diversos sistemas, tanto biológicos como no biológicos [1-3]. La interacción responsable de este fenómeno es la fuerza dielectroforética debida a la distorsión del campo eléctrico en la proximidad de cada una de las partículas dieléctricas, y depende de las características dieléctricas de las partículas y el medio.

Aunque existen tanto estudios teóricos de la fuerza básica experimentada por una partícula dieléctrica inmersa en un campo no uniforme [4-5], como modelos elaborados para diversas clases de bacterias y células de levadura en función de esferas o elipsoides dieléctricas con capas, no se ha prestado mucha atención al proceso general de formación de cadenas, incluyendo su dependencia con la frecuencia, la cual es esencial en la agregación dielectroforética. Hasta el momento solamente existe un reducido tratamiento teórico [6] del problema; esto es debido a la complejidad del fenómeno que implica la interacción a gran distancia de un gran número de partículas.

En este capítulo se extiende la teoría existente para la formación de cadenas con el fin de incluir los efectos debidos a las pérdidas dieléctricas y se lleva a cabo una simulación por ordenador que nos permite manejar la complejidad debida a las interacciones múltiples.

En los últimos años se han realizado numerosas simulaciones por ordenador, dirigidas al estudio del ordenamiento estructural de sistemas, con un gran número de partículas que interactúan a través de una interacción de Van der Waals anisotrópica, o

fuerzas dipolares [7,8]; esta simulación comparte algunas de sus características, pero nuestras partículas no son polares y la formación de cadenas es debida a la polarización inducida por el campo externo únicamente. Como consecuencia de la notable variación de la polarizabilidad efectiva con la frecuencia, va a aparecer una gran riqueza de comportamientos. La simulación numérica permite explorar muchas de esas posibilidades.

El estudio revela aspectos importantes del proceso de concentración dielectroforética, tales como la dependencia de la longitud de las cadenas con la concentración, o la existencia de un campo umbral, así como el valor del mismo.

Las características dinámicas del proceso de encadenamiento son más complicadas y requieren un tratamiento dependiente del tiempo para ser analizadas; éste será llevado a cabo en el último capítulo.

2.2 Teoría de la interacción de partículas

El sistema que se va a estudiar mediante simulación consiste en un conjunto de N partículas esféricas de radio a , distribuidas en una celda plana y cuadrada de lado unidad. El sistema se considera bidimensional y trata de representar una suspensión de células sedimentadas.

Cada una de las partículas es polarizada por el campo externo e interacciona con este campo y el creado por otras partículas. Resolviendo el problema de una esfera dieléctrica inmersa en un campo externo, cuando ambas, la partícula y el medio circundante, son disipativos, de forma análoga a la realizada en el capítulo 1 para un campo general, no uniforme, obtenemos:

$$\vec{p} = \alpha \vec{E}, \quad \alpha = 4\pi a^3 \epsilon_1' \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} \quad (2.1)$$

donde la polarizabilidad compleja α se expresa en términos de las permitividades de las partículas ϵ_2 y del medio circundante ϵ_1 , definidas como: $\epsilon_{1,2} = \epsilon_{1,2}' - j\epsilon_{1,2}''$ con $\epsilon_{1,2}'' = \frac{\sigma_{1,2}}{\omega}$, siendo $\sigma_{1,2}$ la conductividad de cada medio y ω la frecuencia angular. \vec{E} es el campo externo aplicado.

La fuerza promedio sobre un dipolo debida a la polarización de un campo externo no uniforme según obtuvimos en el capítulo 1, es:

$$\vec{f} = \frac{1}{2} \text{Re}(\vec{p} \vec{\nabla}) \vec{E}^* = \pi a^3 \epsilon_1' \text{Re} \left(\frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} \right) \vec{\nabla} |\vec{E}|^2 \quad (2.2)$$

Se puede observar que aunque el sistema no es conservativo, la fuerza dielectroforética deriva de una energía potencial efectiva, cuyo promedio temporal viene dado por:

$$\bar{U} = -\frac{1}{2} \alpha_{\text{ef}} E^2 \quad (2.3)$$

siendo E el valor eficaz del campo y α_{ef} una polarizabilidad real efectiva, dada por

$$\alpha_{\text{ef}} = 4\pi a^3 \epsilon_1' \text{Re} \left\{ \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} \right\} \quad (2.4)$$

de acuerdo con la ecuación (1.25) y diferente de la polarizabilidad compleja dada por la ecuación (2.1).

Con el fin de modelizar una célula biológica, se pueden generalizar los resultados previos para el caso de una esfera recubierta de una membrana, utilizando el concepto de esfera equivalente. Un estudio detallado se da en el apéndice I, donde se consideran los modelos eléctricos de micropartículas.

Si consideramos la interacción entre dos esferas polarizables idénticas j e i , el momento dipolar inducido en cada una de ellas, será debido tanto a la acción del campo externo \vec{E} , como a la del campo producido por cada esfera actuando sobre la otra,

$$\vec{p}_j = \alpha \left[\vec{E} + \vec{E}_i(\vec{r}_j) \right] \quad (2.6)$$

donde:

$$\vec{E}_i(\vec{r}_j) = \frac{1}{4\pi\epsilon_1} \frac{3\vec{n} \cdot (\vec{n} \cdot \vec{p}_i) - \vec{p}_i}{R_{ij}^3} \quad (2.7)$$

siendo \vec{R}_{ij} el vector de posición entre los centros de las esferas, y $\vec{n} = \vec{R}_{ij} / R_{ij}$

En este caso suponemos una aproximación dipolar, e ignoramos las contribuciones debidas a multipolos de orden superior. Gracias a la reciprocidad del campo dipolar $\vec{E}_i(\vec{r}_j) = \vec{E}_j(\vec{r}_i)$ podemos resolver las ecuaciones (2.6) y (2.7) con $\vec{p}_i = \vec{p}_j = \vec{p}$ y obtenemos:

$$\vec{p} = \frac{\alpha}{1 - 2\alpha F} (\vec{n} \cdot \vec{E}) \vec{n} + \frac{\alpha}{1 + \alpha F} (\vec{n} \times \vec{E}) \times \vec{n} \quad (2.8)$$

$$\vec{E}_i = \frac{2\alpha F}{1 - 2\alpha F} (\vec{n} \cdot \vec{E}) \vec{n} - \frac{\alpha F}{1 + \alpha F} (\vec{n} \times \vec{E}) \times \vec{n} \quad (2.9)$$

donde F es un factor geométrico: $F = 1/4\pi\epsilon_1 R_{ij}^3$. El trabajo realizado al traer la esfera i a la proximidad de la esfera j será igual a la suma de los dos siguientes términos: la energía requerida para traer al dipolo inducido por el campo externo, a su posición final dentro del

campo \vec{E}_i , más la energía necesaria para producir la polarización adicional mutua de las dos esferas,

$$\bar{U}_{ij} = -\frac{1}{2} \text{Re}\{\alpha \vec{E} \cdot \vec{E}_i^*(\vec{r}_j)\} - \frac{1}{2} \text{Re}\left\{\alpha \left|E_i(\vec{r}_j)\right|^2\right\} \quad (2.10)$$

siendo el resultado:

$$\bar{U}_{ij} = \left\{ \frac{3(1+2F^2|\alpha|^2)}{2|1+\alpha F|^2|1-2\alpha F|^2} \sin^2 \theta - \frac{1}{1-2\text{Re}\{\alpha\}F} + \frac{2\text{Re}\{\alpha\}F}{|1-2\alpha F|^2} \right\} F|\alpha|^2|E|^2 \quad (2.11)$$

donde θ es el ángulo entre los vectores \vec{n} y \vec{E} . Considerando que $\text{Re}(\alpha)$, $\text{Im}(\alpha) \ll 1/F$ podemos realizar la siguiente aproximación:

$$\bar{U}_{ij} \approx \left(\frac{3}{2} \sin^2 \theta - 1 \right) F|\alpha|^2|E|^2 \quad (2.12)$$

La ecuación previa representa la energía de interacción entre dos partículas cuando se desprecia la polarización mutua de ambas esferas. El caso más desfavorable en lo que a la aproximación respecta será el de dos esferas en contacto. Para este caso, la mínima distancia en la dirección de encadenamiento es $R_{ij} = 2a$, $\theta = 0$; Considerando por ejemplo los parámetros dieléctricos de las células de *Neurospora crassa* [véase apéndice], en una suspensión acuosa ligeramente conductora y a una frecuencia de 10 kHz, encontramos que el error cometido en la aproximación es de un 0.8% aproximadamente.

2.3 Simulación de Montecarlo y resultados

2.3.1 Modelo numérico:

El procedimiento esta basado en el hecho de que el sistema de N esferas evoluciona hacia una configuración de mínima energía potencial efectiva. Si despreciamos la separación de carga debida a interacciones mutuas, podemos escribir la energía total de interacción en la forma:

$$\bar{U} = \bar{U}_0 + \sum_{i,j>i} \bar{U}_{ij} \quad (2.13)$$

donde: \bar{U}_0 es la energía media de los dipolos inducidos en el campo externo, y \bar{U}_{ij} la energía media de interacción entre dipolos,

$$\bar{U}_0 = -\frac{1}{2} \alpha_{ef} E^2 N$$

$$\bar{U}_{ij} = 4\pi a^6 \epsilon_1' \left| \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} \right|^2 \frac{1 - 3\cos^2 \theta_{ij}}{R_{ij}^3} E^2 \quad (2.14)$$

donde E es el valor eficaz del campo alterno. Las fuerzas de Van der Waals de carácter atractivo, aunque importantes para la estabilidad coloidal no tienen relevancia en este caso y por lo tanto no son tenidas en consideración. Por otro lado, las fuerzas repulsivas de corto alcance son introducidas únicamente como una condición de esferas duras. De ahora en adelante se supondrá que la única dispersión dieléctrica existente en la permitividad es la debida a efectos de tipo Maxwell-Wagner, y no a relajaciones dieléctricas. Los cálculos serían fácilmente ampliables para incluir estas últimas también.

La simulación del proceso de encadenamiento está basada en el algoritmo clásico Metrópolis [10] que ha demostrado ser de gran utilidad en el estudio numérico de problemas similares, tales como la estructura de compuestos magnéticos en un campo magnético externo [11-13], el ordenamiento ferroeléctrico de sistemas dipolares [7,8] o la organización molecular de dispersiones de polímeros en gotas de cristal líquido [14]. En este estudio nos concentramos en el ordenamiento espacial, y no analizamos observables eléctricos o termodinámicos.

El algoritmo general de la simulación consiste en los siguientes pasos:

- i) Se establece una distribución inicial aleatoria de partículas en una región cuadrada bidimensional, con una concentración deseada. Se impone una condición de contorno periódica en las direcciones x e y ; más adelante se realiza un estudio detallado del tratamiento de esta condición de contorno.
- ii) Se mueve individualmente cada partícula de manera aleatoria sobre el plano, dentro de un rango máximo permitido.
- iii) Se calcula la energía \bar{U}_i de cada una de las partículas mediante una suma de los términos de interacción dados por la ecuación (2.14).
- iv) La nueva posición de la partícula es aceptada si la nueva energía es menor que la inicial, o bien la exponencial de menos el incremento de energía partido por kT es mayor que un cierto número aleatorio distribuido uniformemente entre 0 y 1.

Se repite el procedimiento para cada partícula, y se reitera el proceso general para todas las partículas, hasta que se alcanza una autoconsistencia en la energía total del sistema.

2.3.2 Condiciones de contorno periódicas. Método de Poisson

En la simulación de un sistema extenso, en especial cuando las interacciones son de largo alcance, existe siempre el problema de los errores de truncamiento, debido a que la muestra es necesariamente de tamaño finito. En la bibliografía, por ejemplo en la simulación de fluidos polares, donde es especialmente importante, se han utilizado dos métodos para superar este problema [28]. El primero de ellos, el método del campo de reacción, trunca la interacción dipolo-dipolo a una cierta distancia crítica r_c de cada dipolo y aproxima el medio exterior a esta esfera de descripción microscópica, por un continuo dieléctrico de permitividad ϵ_r igual a la permitividad del líquido. El segundo consiste en emplear condiciones de contorno periódicas, definiendo una red de celdas idénticas a la celda unidad en cada una de las direcciones del espacio. Es sin embargo un hecho bien conocido que las sumas de interacciones del tipo multipolar en general, extendidas a una red periódica, muestran en algunos casos convergencia condicional y siempre una convergencia muy lenta. El método de Ewald permite efectuar estas sumas; se basa en esencia en introducir una serie de distribuciones gaussianas alrededor de cada centro de carga o momento dipolar, que lo apantalla; las interacciones apantalladas son de corto alcance y así la energía potencial total puede obtenerse sumando a la celda unidad y sus imágenes en el espacio real. Por último hay que sustraer el efecto de la distribución gaussiana lo que se hace mediante una suma en el espacio recíproco, que resulta

rápidamente convergente. El método es muy eficiente, pero el uso de expresiones particulares, válidas para 3D, hace que la idea no sea fácilmente aplicable a un problema bidimensional como el nuestro.

En nuestro trabajo se ha utilizado una técnica diferente, no empleada hasta ahora en simulación de sistemas polares, aunque sí en el estudio de dieléctricos artificiales [15]. Se trata del método de Poisson que simplemente recurre a la suma de las interacciones en el espacio recíproco donde la convergencia es mucho más rápida. Para ello se parte de la fórmula de Poisson

$$\sum_{m=-\infty}^{\infty} f(\alpha m) = \sum_{m=-\infty}^{\infty} F\left(\frac{2\pi m}{\alpha}\right) \quad (2.15)$$

siendo $F(k)$ la transformada de Fourier de $f(z)$, es decir

$$F(k) = \int_{-\infty}^{\infty} e^{ikz} f(z) dz$$

y se hace uso de la relación

$$\int_{-\infty}^{\infty} (z^2 + r^2)^{-\nu-1/2} e^{ikz} dz = 2 \left(\frac{|k|}{2r} \right)^{\nu} \pi^{1/2} \frac{K_{\nu}(|k|r)}{\Gamma(\nu+1/2)}$$

siendo K_{ν} la función de Bessel modificada de segunda clase. Particularizando esta expresión para $\nu = 2$ y derivando dos veces respecto a k , se obtiene la transformada Fourier de un término del tipo interacción dipolar:

$$\int_{-\infty}^{\infty} \frac{2z^2 - r^2}{(z^2 + r^2)^{5/2}} e^{ikz} dz = -2k^2 K_0(|k|r)$$

y así, mediante la ecuación (2.15), obtenemos el potencial debido a un dipolo y a todas sus imágenes sobre otro dado, en la forma:

$$\sum_{ij} \frac{1 - 3 \cos^2 \theta_{ij}}{R_{ij}^3} = \frac{2}{w} \sum_n \sum_m \left(\frac{2m\pi}{w} \right)^2 K_0 \left(\left| \frac{2m\pi}{w} \right| (nh - y) \right) e^{j[(2m\pi)/w]x} \quad (2.16)$$

donde x, y son las coordenadas relativas de los dos dipolos; w, h son las dimensiones de la celda unidad, y K_0 es la función modificada de Bessel de segunda especie. Las series del término de la derecha son rápidamente convergentes.

2.3.3 Resultados

Hemos caracterizado la muestra mediante los parámetros geométricos y dieléctricos de una suspensión acuosa de *Neurospora Crassa* [véase apéndice]; los parámetros son los siguientes: $\epsilon_i = 50 \epsilon_0$, $\sigma_i = 0.2 \text{ Sm}^{-1}$ para el citoplasma; $\epsilon_m = 5 \epsilon_0$, $\sigma_m \approx 0$ para la membrana. Las dimensiones de la célula y el espesor de la membrana son, respectivamente, $a = 10 \mu\text{m}$, $d = 10 \text{ nm}$. La permitividad y conductividad del medio externo se han tomado como $\epsilon_1 = 80 \epsilon_0$, $\sigma_1 = 0.2 \Omega^{-1}\text{m}^{-1}$. Todos los resultados de este apartado se refieren a dicha preparación.

El máximo número de partículas lanzadas en la celda ha sido de 238, aunque se llevaron a cabo varias simulaciones, con hasta un máximo de 952 partículas, para una concentración dada, con la finalidad de comprobar que el tamaño de la celda de simulación no tiene influencia significativa en los resultados.

Cada simulación consiste en unas 10.000 tiradas por partícula. Para un número reducido de casos la simulación se extendió hasta 100.000 tiradas, sin observarse ninguna variación significativa de los resultados.

La figura 2.1 muestra una configuración final de partículas después de la aplicación de un campo eléctrico, apreciándose el típico aspecto de cadenas de partículas que se observan en un experimento de dielectroforesis.

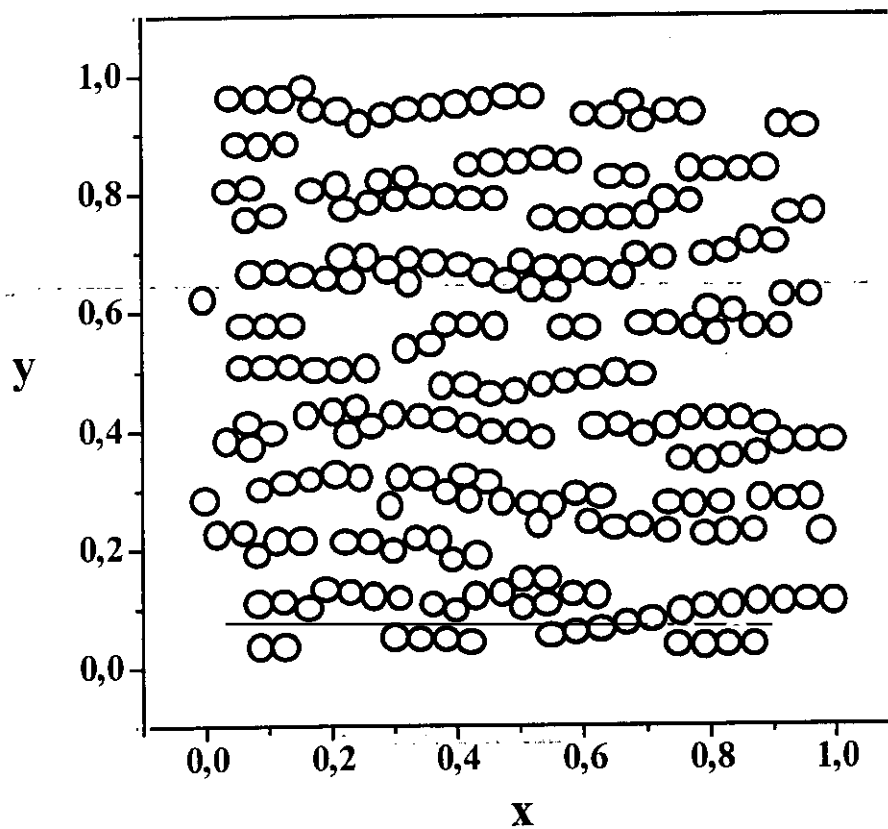


Figura 2.1. Configuración final bidimensional de las células, obtenida por simulación de Montecarlo, tras la aplicación de un campo eléctrico en la dirección x (fracción superficial = 0.3, $f = 1$ MHz, $E = 10^4$ Vm⁻¹).

Con la finalidad de poder cuantificar el ordenamiento inducido por el campo externo, se define el parámetro *conectividad* como el número promedio de células en contacto con una dada, se considera que dos células están conectadas cuando la distancia entre sus centros es menor que $2.1a$, siendo a el radio de la esfera. Con las simulaciones de fenómenos físicos se persiguen básicamente dos objetivos. Por un lado, el análisis del efecto que diferentes parámetros puedan ejercer sobre el comportamiento de sistemas complejos, de tal manera que mediante una confrontación de los resultados de una simulación basada en una determinada teoría y un trabajo experimental, se consiga una depuración y verificación de la teoría. Por otra parte con las simulaciones por ordenador se pretenden lograr sistemas de predicción que permitan aventurar el resultado de la evolución de diversos sistemas físicos, lo que puede ser de gran importancia en numerosos campos de la ciencia y la ingeniería, donde predicciones fiables, pueden abaratar notablemente los costes experimentales o de diseño. En la simulación llevada a cabo en este trabajo se ha investigado la influencia ejercida por diversos parámetros en la agregación dielectroforética de microorganismos. Los parámetros elegidos son controlables desde una perspectiva experimental y comprensibles de manera directa por científicos de cualquier disciplina asociada (biólogos, fisiólogos...), con el fin de que la simulación pueda servir de apoyo a líneas experimentales presentes o futuras. Un primer parámetro estudiado es el de la concentración de células en la muestra, este es de hecho el único parámetro de naturaleza no eléctrica, susceptible de control. La figura 2.2 muestra la dependencia de la conectividad final alcanzada con la fracción de superficie cubierta. La dependencia es casi lineal para valores altos de la

concentración. Siempre el valor final de la conectividad para una concentración dada depende fuertemente de la intensidad del campo aplicado.

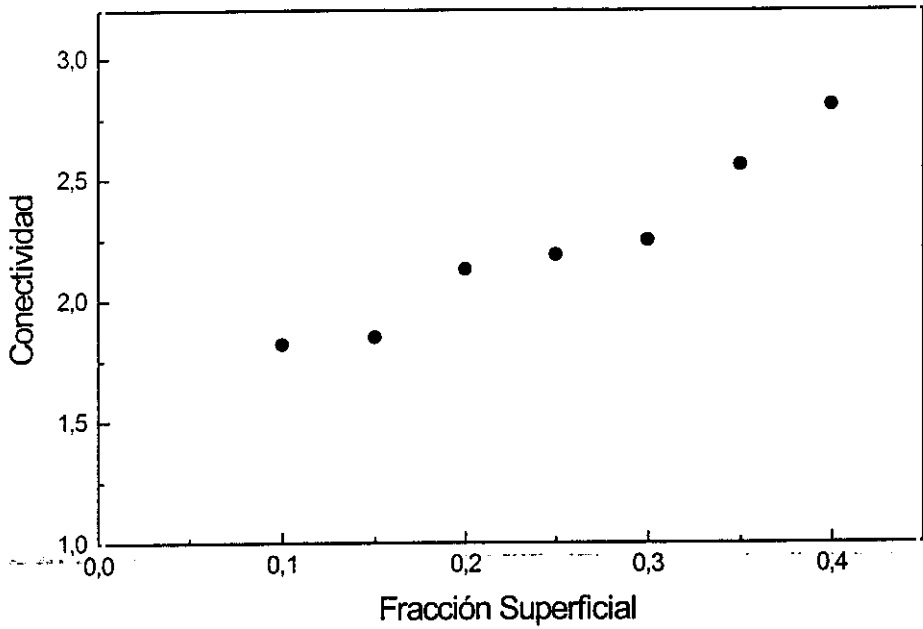


Figura 2.2. Influencia sobre la conectividad final de la concentración de células, representada como fracción superficial cubierta ($E = 10^4 \text{ Vm}^{-1}$, $f = 1\text{MHz}$).

El incremento de conectividad por encima del valor de 2 que corresponde a cadenas de longitud infinita, significa la formación de agregados columnares o grumos, por asociación de cadenas adyacentes. Este aspecto de interés en aplicaciones electrorreológicas será analizado en detalle mediante técnicas de dinámica browniana que se estudian en el capítulo 4.

2.3.4 Determinación del umbral de agregación: Campo crítico

Un segundo parámetro estudiado es la intensidad del campo polarizante; éste depende directamente del voltaje aplicado, fácilmente controlable a través del generador de señal. En la figura 2.3 se representa la variación de la conectividad con la intensidad del campo aplicado. Es importante observar que las curvas muestran la existencia de una intensidad umbral para una frecuencia dada.

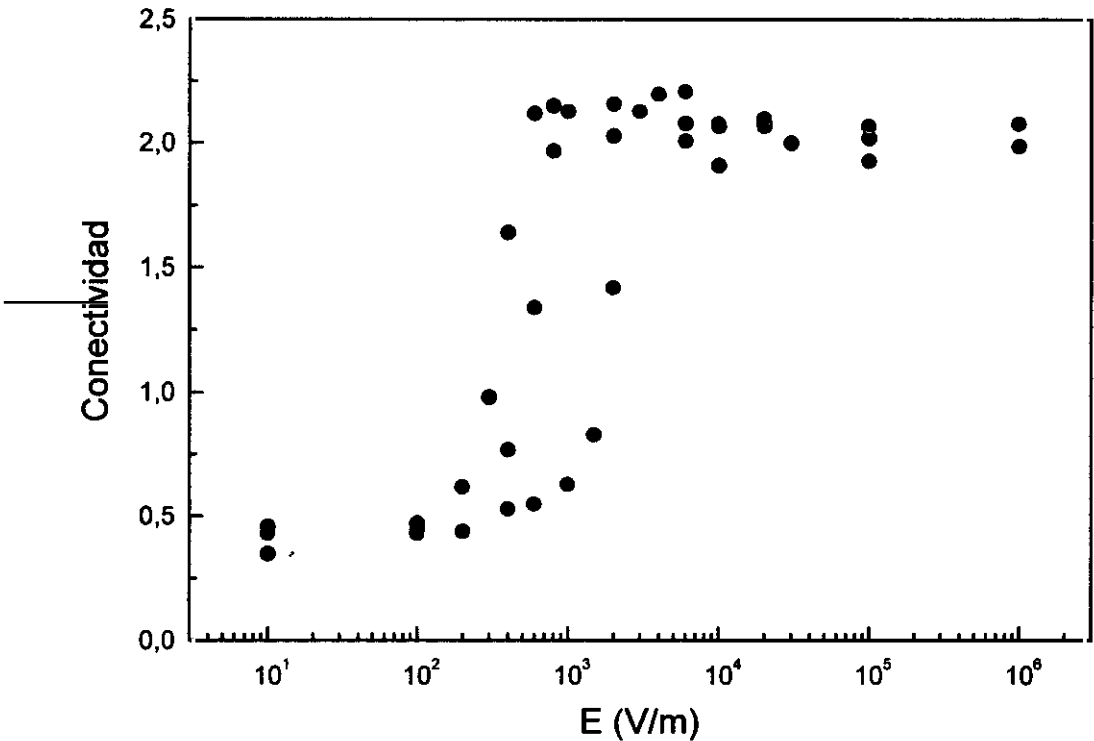


Figura 2.3. Dependencia de la conectividad con la intensidad de campo aplicado para diferentes frecuencias, obtenida por simulación de Montecarlo: $f = 10^5$ Hz (\bullet), $f = 10^2$ Hz (\circ) y $f = 10^9$ Hz (\bullet). Fracción superficial = 0.3. Las curvas muestran un umbral en la intensidad de campo para el inicio del encadenamiento, que varía con la frecuencia.

La determinación de una intensidad crítica de campo a partir de la cual se produce el proceso de agregación puede ser de gran utilidad para las técnicas de electrofusión celular [16,17], en las cuales se busca el contacto celular, pero al mismo tiempo no es deseable la aplicación de grandes intensidades de campo que podrían dañar las estructuras celulares, o producir calentamiento con fuertes corrientes de convección asociadas que podrían perturbar la técnica. El orden de magnitud de este umbral de intensidad de campo, puede ser estimado teóricamente comparando la energía térmica de agitación de una partícula con la energía de interacción de dos partículas dada por la ecuación (2.14). En esta ecuación particularizamos R_{ij} , haciéndolo igual a la distancia promedio entre pares de partículas más próximas s , la cual es calculada mediante promediado para un número alto de configuraciones aleatorias. La figura 2.4 muestra la variación de s con la fracción superficial. Tomando $\langle \cos^2 \theta_{ij} \rangle = \frac{1}{2}$ resulta:

$$2\pi \frac{a^6}{s^3} \epsilon_1 \left| \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} \right|^2 E_{\text{crit}}^2 \approx kT \quad (2.17)$$

de lo cual despejando E_{crit} obtenemos:

$$E_{\text{crit}} \approx \left(\frac{kTs^3}{2\pi a^6 \epsilon_1} \right)^{\frac{1}{2}} \left| \frac{\epsilon_2 + 2\epsilon_1}{\epsilon_2 - \epsilon_1} \right| \quad (2.18)$$

Para la preparación descrita a frecuencias de $f = 10^2$, 10^5 y 10^9 Hz y una fracción superficial cubierta de 0.3, se obtienen campos umbrales $E_{\text{crit}} \approx 240$, 140 y 800 Vm^{-1} respectivamente, que están razonablemente en concordancia con los resultados de la simulación (véase la figura 2.3).

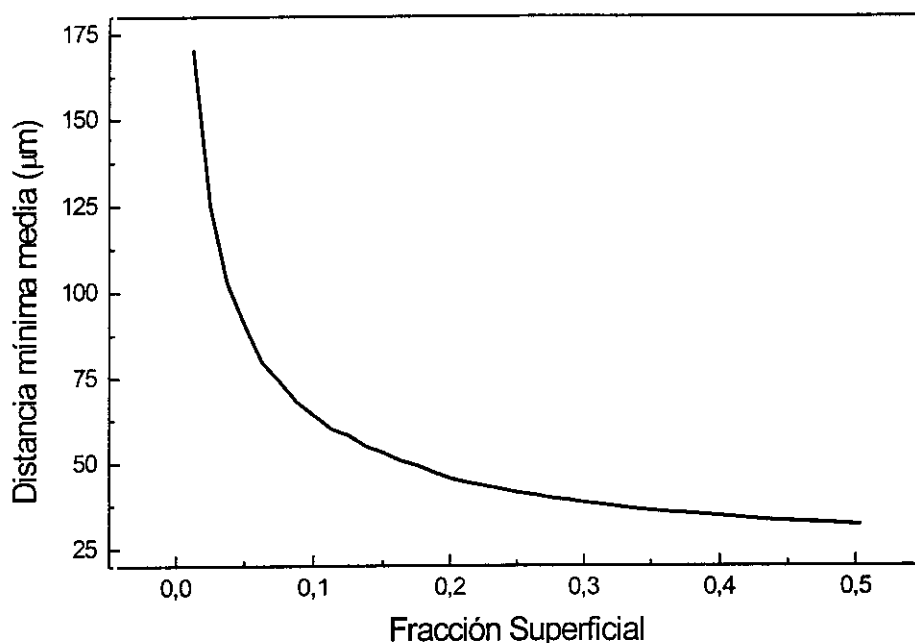


Figura 2.4. Variación de la distancia mínima media entre partículas con la fracción superficial para una distribución aleatoria. Los cálculos han sido realizados para partículas de $10\ \mu\text{m}$ de radio distribuidas en una celda cuadrada de 1mm^2 de superficie.

Una tercera variable que tiene gran importancia en el comportamiento de la suspensión, es la frecuencia del campo aplicado. A bajas frecuencias, el comportamiento está dominado por las conductividades del medio y las partículas, mientras que para altas frecuencias, es la parte real de las permitividades la que domina. Entre ambos extremos, la interacción dipolar varía de acuerdo con una relajación de tipo Maxwell-Wagner en las interfases dando lugar a una respuesta considerablemente complicada. En la figura 2.5 se puede ver una gráfica de la variación de la polarizabilidad efectiva con la frecuencia, dada por la ecuación (2.4). Como consecuencia de esta relación el proceso de formación de cadenas muestra una fuerte dependencia con la frecuencia.

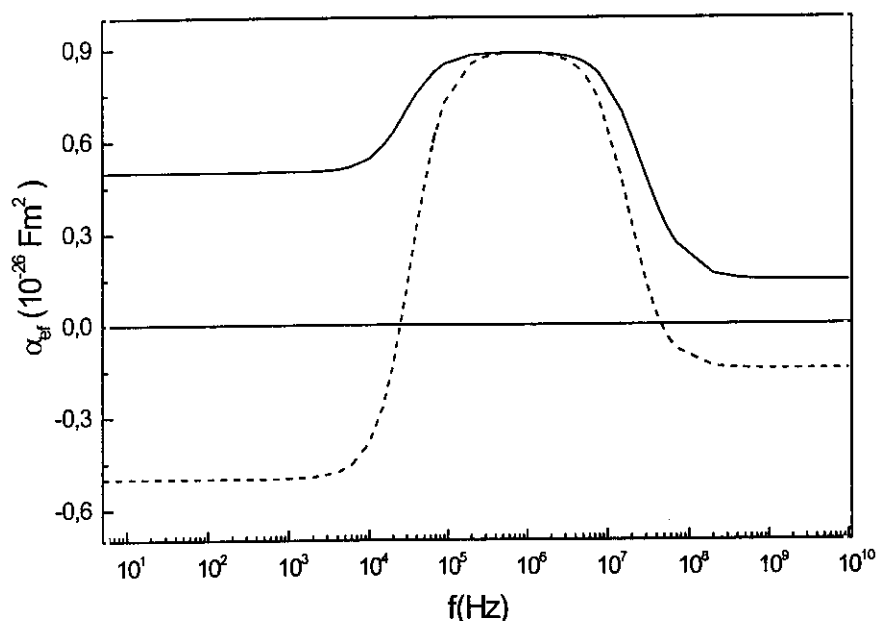


Figura 2.5. Dependencia de la polarizabilidad efectiva de *Neurospora Crassa* con la frecuencia. La línea punteada muestra la polarizabilidad efectiva de interacción con el campo mientras que la línea continua muestra la polarizabilidad efectiva para la interacción entre partículas.

En la figura 2.6 se muestra la variación de la conectividad final con la frecuencia, resultante de la simulación, para diferentes intensidades de campo, manteniendo una concentración fija. Es interesante mencionar que en varios trabajos se ha utilizado el espectro del rendimiento de recolección dielectroforética, medido en términos de longitud media de cadenas, con el fin de obtener información sobre las características eléctricas de las células [18,19]. La medida del espectro de formación de cadenas en términos de conectividad, podría ser un método alternativo equivalente.

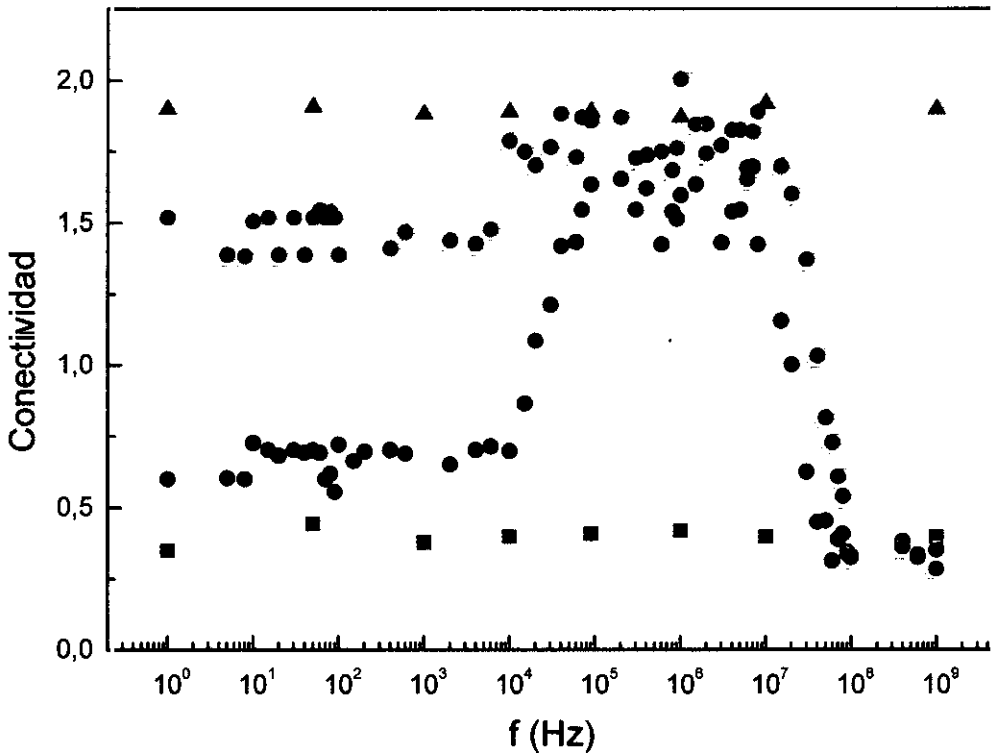


Figura 2.6. Dependencia de la conectividad con la frecuencia del campo aplicado para diferentes intensidades de campo: (■) $E_0 = 10^2 \text{ Vm}^{-1}$, (●) $E_0 = 5 \times 10^2 \text{ Vm}^{-1}$, $E_0 = 8 \times 10^2 \text{ Vm}^{-1}$ (•) y $E_0 = 10^4 \text{ Vm}^{-1}$ (▲). La fracción superficial es de 0.3.

Por comparación de las figuras 2.5 y 2.6 se puede observar claramente que, en efecto la polarizabilidad efectiva y la conectividad exhiben un comportamiento análogo con respecto a la frecuencia, aunque solamente en un determinado rango de intensidades de campo. Para intensidades por debajo del límite inferior, en este caso el campo umbral, no se obtiene ninguna agregación. Por encima del límite superior se entra en un régimen de saturación.

Uno de los pocos modelos teóricos propuestos para representar la recolección dielectroforética, es el de Pohl y Crane [20,21]; estos últimos, desarrollaron una teoría para la concentración dielectroforética de células sobre electrodos, la cual ha sido la principal referencia para este tipo de estudios. Su modelo sin embargo usa electrodos con simetría cilíndrica y supone que las esferas son recolectadas como partículas individuales. Los experimentos muestran por el contrario, que excepto para muy bajas concentraciones, los procesos de agregación entre partículas empiezan muy rápidamente tras la aplicación del campo, dando lugar a la formación de cadenas de longitud variable y que posteriormente se desplazan hacia los electrodos, uniéndose a otras células o grupos de células en su camino hacia el electrodo. La concentración dielectroforética sobre electrodos es un proceso complejo y la formación de cadenas es un paso esencial en este proceso. La simulación de Monte Carlo proporciona una correlación directa entre los parámetros dieléctricos de la partícula y los datos experimentales de rendimiento y longitud de cadenas.

2.4 Simulación de Montecarlo para el caso de partículas elipsoidales

Muchas son las células biológicas que se desvían de la geometría esférica y que muestran un perfil que puede aproximarse por un contorno elipsoidal. Esta anisotropía da lugar a que muestren un comportamiento especial bajo la acción de un campo eléctrico de radiofrecuencia. La pérdida de la simetría esférica hace que sean dos los aspectos a considerar en el estudio de una suspensión de dichas partículas desde un punto de vista dielectroforético. Por un lado están los aspectos de agregación, al igual que para el caso de partículas esféricas y en segundo lugar pueden existir diferentes posibilidades de orientación de los ejes de las partículas con respecto a la dirección del campo aplicado. De nuevo nos encontramos con el hecho de que, aunque existe una teoría para el comportamiento de una célula individual [22,23], que se centra principalmente en el estudio de la electroorientación de una partícula individual en un campo eléctrico, y también se han realizado estudios sobre las propiedades dieléctricas macroscópicas de suspensiones de partículas elipsoidales [24], no se ha prestado suficiente atención a las interacciones múltiples en una suspensión de partículas, que dan lugar a desviaciones respecto de la teoría para la orientación de una partícula. En definitiva, no existe hasta la fecha ninguna modelización de la formación de agregados dielectroforéticos en suspensiones de células elipsoidales [25]. En este estudio se lleva a cabo una simulación de Montecarlo para una suspensión de partículas elipsoidales bajo la acción de un campo eléctrico de radiofrecuencia, con el fin de investigar posible efectos colectivos, así como características propias de los mecanismos de encadenamiento de partículas elipsoidales.

2.4.1 Teoría de la polarizabilidad de una célula elipsoidal con membrana. Electro-orientación de elipsoides.

Consideremos una partícula elipsoidal con capa, inmersa en un medio homogéneo, donde cada zona viene caracterizada por sus respectivas constantes dieléctricas complejas como en la que se muestra en la figura 2.7. Las superficies interior y exterior vienen dadas por dos elipsoides confocales (lo cual implica que el grosor de la capa no es el mismo en toda la superficie), esta es una imposición matemática con el fin de poder imponer condiciones de contorno sobre ambas superficies en la resolución de la ecuación de Laplace.

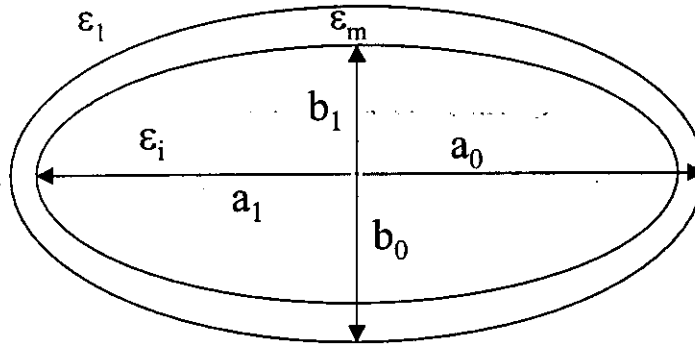


Figura 2.7. Modelo de una partícula elipsoidal con capa confocal. Las regiones dieléctricas representan citoplasma y membrana.

Se introduce un sistema de coordenadas elipsoidales [26] tomando la superficie externa de la capa como elipsoide de referencia.

$$\frac{x^2}{a_0^2 + \xi} + \frac{y^2}{b_0^2 + \xi} + \frac{z^2}{c_0^2 + \xi} = 1$$

$\xi=0$ representa el elipsoide exterior y $\xi=-\rho$ representa el elipsoide interior, de tal forma que:

$$a_1^2 = a_0^2 - \delta \quad ; \quad b_1^2 = b_0^2 - \delta \quad ; \quad c_1^2 = c_0^2 - \delta$$

Consideremos ahora la solución al problema de potencial de un elipsoide con capa inmerso en un campo externo homogéneo $\vec{E} = (E_x, E_y, E_z)$.

El potencial será la solución de la ecuación de Laplace en coordenadas elipsoidales dada por:

$$(\eta - \zeta)R_\xi \frac{\partial}{\partial \xi} \left(R_\xi \frac{\partial \Phi}{\partial \xi} \right) + (\zeta - \xi)R_\eta \frac{\partial}{\partial \eta} \left(R_\eta \frac{\partial \Phi}{\partial \eta} \right) + (\xi - \eta)R_\zeta \frac{\partial}{\partial \zeta} \left(R_\zeta \frac{\partial \Phi}{\partial \zeta} \right) = 0$$

con las siguientes condiciones de contorno.

$$\xi \rightarrow \infty \quad ; \quad \Phi = -(x E_x + y E_y + z E_z)$$

$$\xi = 0 \quad ; \quad \Phi_i = \Phi_m \quad ; \quad \epsilon_i \frac{\partial \Phi_0}{\partial n} = \epsilon_m \frac{\partial \Phi_1}{\partial n}$$

$$\xi = -\delta \quad ; \quad \Phi_m = \Phi_1 \quad ; \quad \epsilon_m \frac{\partial \Phi_1}{\partial n} = \epsilon_1 \frac{\partial \Phi_2}{\partial n}$$

El potencial se puede resolver analíticamente [24] dando como resultado para el medio exterior:

$$\begin{aligned} \Phi_0 = & -E_x x \left[1 - \frac{\epsilon_x^* - \epsilon_0^*}{\epsilon_0^* + (\epsilon_x - \epsilon_0^*) A_{0x}} A'_{0x} \right] - E_y y \left[1 - \frac{\epsilon_y^* - \epsilon_0^*}{\epsilon_0^* + (\epsilon_y - \epsilon_0^*) A_{0y}} A'_{0y} \right] \\ & - E_z z \left[1 - \frac{\epsilon_z^* - \epsilon_0^*}{\epsilon_0^* + (\epsilon_z - \epsilon_0^*) A_{0z}} A'_{0z} \right] \end{aligned}$$

donde:

$$\epsilon_k = \epsilon_s \frac{\epsilon_s + (\epsilon_i - \epsilon_s) A_{1k} + v(\epsilon_i - \epsilon_s)(1 - A_{0k})}{\epsilon_s + (\epsilon_i - \epsilon_s) A_{1k} - v(\epsilon_i - \epsilon_m) A_{0k}} \quad (2.18)$$

En esta ecuación, $k = x, y, z$; $v = a_1 b_1 c_1 / a_0 b_0 c_0$, A_{0k} y A_{1k} son los factores de depolarización y vienen dados en forma de integrales elípticas de la forma:

$$A_{sk} = \frac{a_s b_s c_s}{2} \int_0^\infty \frac{d\xi}{(t_s^2 + \xi) D_s}, \quad A'_{0k} = \frac{a_0 b_0 c_0}{2} \int_\xi^\infty \frac{d\xi}{(t_0^2 + \xi) D_0}$$

$$\text{con: } D_s = \sqrt{(\xi + a_s^2)(\xi + b_s^2)(\xi + c_s^2)} \quad ; \quad t_s = a_s, b_s, c_s \quad ; \quad s = 0, 1$$

El resultado de la ecuación (2.18) se puede interpretar como la componente de la constante dieléctrica que tendría un elipsoide homogéneo equivalente al elipsoide con capa. En zonas lejanas al elipsoide, la coordenada ξ se comporta como r^2 . Bajo esta condición A'_{0k} se puede reducir de la siguiente manera:

$$A'_{0k} = \frac{a_0 b_0 c_0}{2-} \int_{\xi}^{\infty} \frac{d\xi}{(t_0^2 + \xi) D_0} \approx \frac{a_0 b_0 c_0}{2-} \int_{\xi}^{\infty} \xi^{-5/2} d\xi = \frac{a_0 b_0 c_0}{2-} \frac{2}{3} \xi^{-3/2} \approx \frac{a_0 b_0 c_0}{3-} \frac{1}{r^3}$$

y el potencial exterior se puede expresar en la forma familiar de coordenadas esféricas como:

$$\Phi = \frac{a_0 b_0 c_0 (\epsilon_2 - \epsilon_1)/3}{\epsilon_1 + (\epsilon_2 - \epsilon_1) A_{0x}} E_x \frac{\cos \theta}{r^2}$$

donde hemos hecho $E_y = E_z = 0$ para simplificar. Identificando esta expresión con el potencial producido por un dipolo, podemos hallar la polarizabilidad del elipsoide para el eje x, que viene dada por:

$$\alpha_x = \frac{4\pi a_0 b_0 c_0}{3} \epsilon_1 \left[\frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_1 + (\epsilon_2 - \epsilon_1) A_{0x}} \right] \quad (2.19)$$

Repitiendo el procedimiento y anulando las componentes x, y ó x, z se obtienen expresiones análogas para las componentes de polarizabilidad en las direcciones y, z.

Una vez obtenida la polarizabilidad del elipsoide se puede calcular el momento dipolar inducido por cualquier campo aplicado mediante la relación:

$$\vec{p} = (\alpha_x E_x, \alpha_y E_y, \alpha_z E_z)$$

En la figura 2.8 se muestran las componentes del tensor de polarizabilidad para el caso de eritrocitos de llama que son aproximadamente elipsoidales.

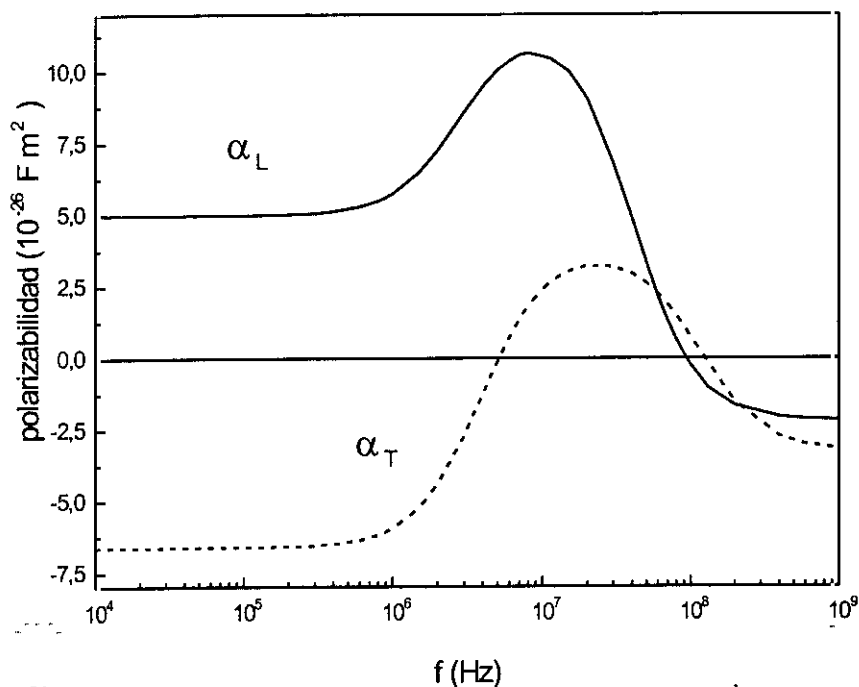


Figura 2.8. Componentes del tensor polarizabilidad de eritrocitos de llama. α_L es la polarizabilidad a lo largo del eje mayor del elipsoide, α_T , a lo largo del eje menor del elipsoide. La relación de ejes es de $a : b : c = 4 : 2 : 1.1$. Parámetros dieléctricos: $\epsilon_i = 52\epsilon_0$, $\epsilon_m = 10\epsilon_0$, $\epsilon_l = 80\epsilon_0$, $\sigma_i = 0.23 \text{ Sm}^{-1}$, $\sigma_m = 0 \text{ Sm}^{-1}$, $\sigma_l = 0.02 \text{ Sm}^{-1}$ [27].

2.4.2 Simulación de Montecarlo

Se ha modificado la simulación de Montecarlo ya descrita en este capítulo con el fin de poder realizar el estudio de suspensiones de partículas elipsoidales.

Varias son las modificaciones realizadas. En primer lugar las partículas pueden no solo ser desplazadas en el plano sino que también pueden ser rotadas con respecto a un eje perpendicular al plano de sedimentación. Al incluir un nuevo grado de libertad la posición de cada partícula es ahora definida tanto por la posición de su centro como por el ángulo formado entre su eje mayor y el eje x

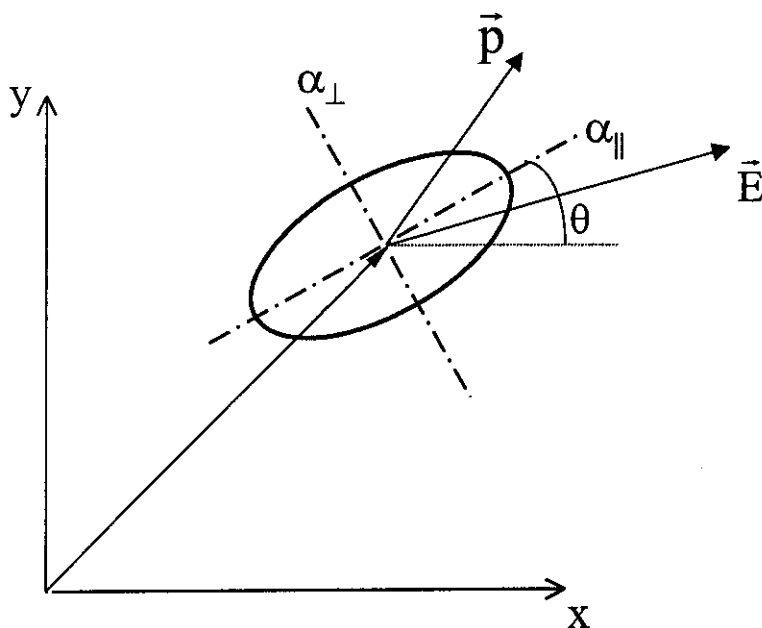


Figura 2.9. Elipsoide polarizado por un campo externo. Debido a la anisotropía de la partícula, \vec{p} y \vec{E} no son paralelos.

El hecho de tener diferentes polarizabilidades en los ejes mayor y menor de la partícula implica que el momento dipolar de la partícula debe ser recalculado para cada nueva orientación. En segundo lugar, la interacción repulsiva de corto alcance, aproximada como una condición de no penetrabilidad o de exclusión, requiere ahora una consideración especial.

2.4.3 Cálculo del momento dipolar inducido para una orientación arbitraria

Consideremos una partícula elipsoidal sobre el plano y que tiene polarizabilidades efectivas α_{\parallel} y α_{\perp} referidas a sus ejes naturales, ver la figura 2.9. Para calcular el momento dipolar inducido por un campo eléctrico arbitrario de componentes E_x y E_y en nuestro sistema de referencia, deberemos proyectar las componentes del campo sobre los ejes de la elipse y calcular el momento dipolar

inducido en términos de la base dada por los ejes de la elipse, y posteriormente mediante una rotación, hacer un cambio de base a nuestros ejes cartesianos.

$$\begin{aligned} P'_x &= \alpha_{\perp} E_x \cos \theta + \alpha_{\parallel} E_y \sin \theta \\ P'_y &= -\alpha_{\parallel} E_x \sin \theta + \alpha_{\perp} E_y \cos \theta \end{aligned}$$

Una vez calculado el momento dipolar referido a los ejes de la elipse, rotamos un ángulo θ igual al girado por la elipse:

$$\begin{pmatrix} P_x \\ P_y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \cos \theta & \sin \theta \\ -\sin \theta & \cos \theta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} P'_x \\ P'_y \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \alpha_x \cos^2 \theta + \alpha_y \sin^2 \theta & (\alpha_y - \alpha_x) \cos \theta \sin \theta \\ (\alpha_x - \alpha_y) \cos \theta \sin \theta & \alpha_x \sin^2 \theta + \alpha_y \cos^2 \theta \end{pmatrix} \begin{pmatrix} E_x \\ E_y \end{pmatrix}$$

Vemos cómo la anisotropía de la partícula, ha transformado la polarizabilidad en un tensor, representable por una matriz 2×2 , tal que: $\vec{P} = \vec{\alpha} \cdot \vec{E}$.

Otro aspecto importante en una simulación de Montecarlo de partículas elipsoidales es el estudio del solapamiento entre partículas. En este caso, se requiere un tratamiento más sofisticado que en el caso de partículas esféricas, en el que para evitar el solapamiento entre dos partículas es suficiente con comprobar que la distancia entre sus centros no sea inferior a un diámetro. En el caso de partículas elipsoidales, su solapamiento no solo depende de la distancia entre centros, sino además, de su orientación relativa.

2.4.4 Estudio de la condición de exclusión entre dos partículas elipsoidales

Consideremos dos elipses que representan los contornos de dos partículas sedimentadas, como se muestra en la figura 2.10

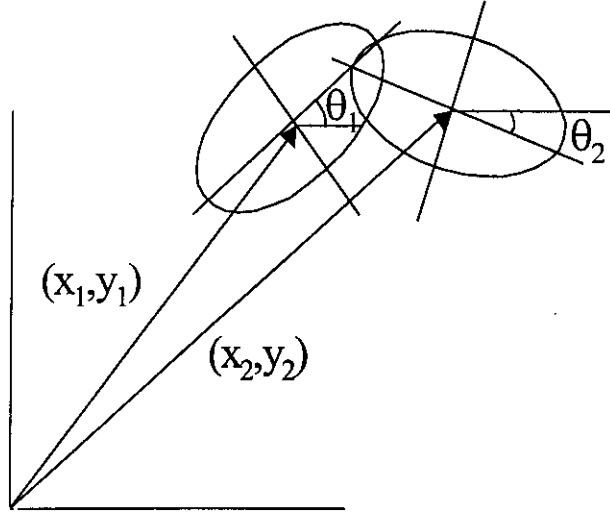


Figura 2.10. Dos partículas elipsoidales determinadas por sus centros y ángulos de rotación.

Cada elipse está definida por las coordenadas de su centro y el ángulo que el eje mayor forma con la horizontal. Establecemos el criterio de exclusión de la forma siguiente.

La ecuación de la primera elipse en coordenadas paramétricas viene dada por:

$$x = a \cos \theta_1 \cos \varphi + b \sin \theta_1 \sin \varphi$$

$$y = -a \cos \theta_1 \sin \varphi + b \sin \theta_1 \cos \varphi$$

En función del parámetro $0 \leq \varphi \leq 2\pi$.

Se toman N puntos distribuidos uniformemente sobre la elipse:

$$\varphi_j = j \frac{2\pi}{N} \quad ; \quad x_j = X(\varphi_j) \quad ; \quad y_j = Y(\varphi_j)$$

Los puntos x_j, y_j se sustituyen en la ecuación implícita en cartesianas de la segunda elipse:

$$\frac{\left[(x_j - x_2) \cos \theta_2 - (y_j - y_2) \sin \theta_2 \right]^2}{a^2} + \frac{\left[(x_j - x_2) \sin \theta_2 + (y_j - y_2) \cos \theta_2 \right]^2}{b^2} = \eta$$

Así pues el criterio resultante es que si $\eta < 1$ el punto está dentro de la elipse y si $\eta > 1$ el punto está fuera de la elipse. Si para cualquiera de los puntos (x_j, y_j) el valor del parámetro η es menor que 1 esto implica que las dos elipses se están solapando.

2.4.5 Cálculo de la energía de interacción

Debido a que las partículas tienen un grado de libertad añadido y ahora pueden rotar, al cálculo de la energía debe añadirse un nuevo término que considere la energía de interacción con el campo aplicado. A diferencia del caso de partículas esféricas en las que el momento dipolar inducido por el campo era constante, dando lugar a su vez a una energía de interacción con el campo constante y que no requiere ser considerada en la evolución de la simulación, en el caso de partículas elipsoidales, el momento dipolar inducido varía en módulo y dirección, dependiendo de la orientación de la partícula. Existe por tanto un término de interacción con el campo variable a lo largo de la simulación. Es importante, que al igual que en el caso de partículas esféricas, como consecuencia del promediado sobre magnitudes complejas, van a resultar polarizabilidades efectivas diferentes para el cálculo de la energía, una que da cuenta de la interacción con el campo polarizante igual a $\text{Re}\{\alpha\}$

y otra que considera la interacción entre partículas y es igual a $|\alpha|$, donde α es la polarizabilidad compleja dada por la ecuación (2.19).

$$\bar{U}_{ij} = \frac{1}{2} \text{Re} \left\{ \sum_{j \neq i}^N \frac{1}{R_{ij}^3} \left[-(\bar{\alpha}_i \cdot \bar{E})(\bar{\alpha}_j \cdot \bar{E})^* - 3 \frac{(\bar{\alpha}_i \cdot \bar{R}_{ij})(\bar{\alpha}_j \cdot \bar{R}_{ij})}{R_{ij}^2} \right] - (\bar{\alpha}_i \cdot \bar{E})\bar{E}^* \right\}$$

con: $\bar{R}_{ij} = \bar{r}_i - \bar{r}_j$.

Es interesante comentar un efecto propio de partículas con pérdidas y relacionado con la electroorientación. La energía de interacción con el campo externo, que es responsable de la orientación de las partículas, es vista desde un punto de vista dinámico como proveniente del momento que ejerce el campo sobre el dipolo inducido en la partícula. El momento promedio $\bar{\tau}$ ejercido por el campo \bar{E} sobre un dipolo de momento \bar{p} viene dado por: $\bar{\tau} = \frac{1}{2} \text{Re} \{ \bar{p} \times \bar{E} \}$. Como vemos, para que el momento $\bar{\tau}$ no sea nulo es necesario que \bar{p} y \bar{E} no sean paralelos. Si suponemos un campo rotatorio actuando sobre la partícula, dos son las causas que originan que el momento dipolar inducido no sea paralelo al campo inductor. Por un lado la geometría de la partícula, que da lugar a una anisotropía como la ya vista, y por otro lado el desfase entre el campo aplicado y el momento dipolar inducido debido a las pérdidas. El cálculo de la energía a través de la polarizabilidad compleja, considera estas dos contribuciones. En el caso de partículas esféricas es suficiente la segunda contribución mencionada para dar lugar a electrorotación bajo la acción de un campo rotatorio.

2.5 Resultados de la simulación de Montecarlo para partículas elipsoidales

2.5.1 Estudio de la electroorientación en función de la frecuencia

Hasta la fecha no existe ninguna modelización del fenómeno de formación de cadenas en suspensiones de partículas elipsoidales.

Nuestra simulación fue llevada a cabo para cien partículas elipsoidales correspondientes a los parámetros físicos de eritrocitos de llama tomados de Pauli and Schwan y que han sido estudiado experimentalmente por Miller y Jones [25,26], para el caso de partículas individuales inmersas en un campo uniforme. En la figura 2.11 se muestran los resultados de la simulación con las dos posibles orientaciones, paralela y perpendicular al campo aplicado. En la figura 2.12 se muestra una gráfica experimental de Jones [26] de las posibles zonas de orientación en función de la frecuencia y de la conductividad del medio. La simulación reproduce estos resultados cualitativamente bien. En la región de alta frecuencia el acuerdo cuantitativo entre simulación y experimento es bueno. Es interesante comentar que para la frecuencia $5 \cdot 10^7$ Hz a la cual las dos componentes del tensor de polarizabilidad se igualan, convirtiendo a la partícula en isotrópica, obtenemos la presencia de ambas orientaciones simultáneamente e incluso orientaciones mixtas no definidas, que se observan experimentalmente.

La simulación predice el cambio de orientación paralela a transversal de baja frecuencia, a valores algo más bajos que los observados en el experimento. Esta discrepancia puede deberse a los efectos de dispersión asociados a las contrainciones presentes en el medio, alrededor de las partículas [27].

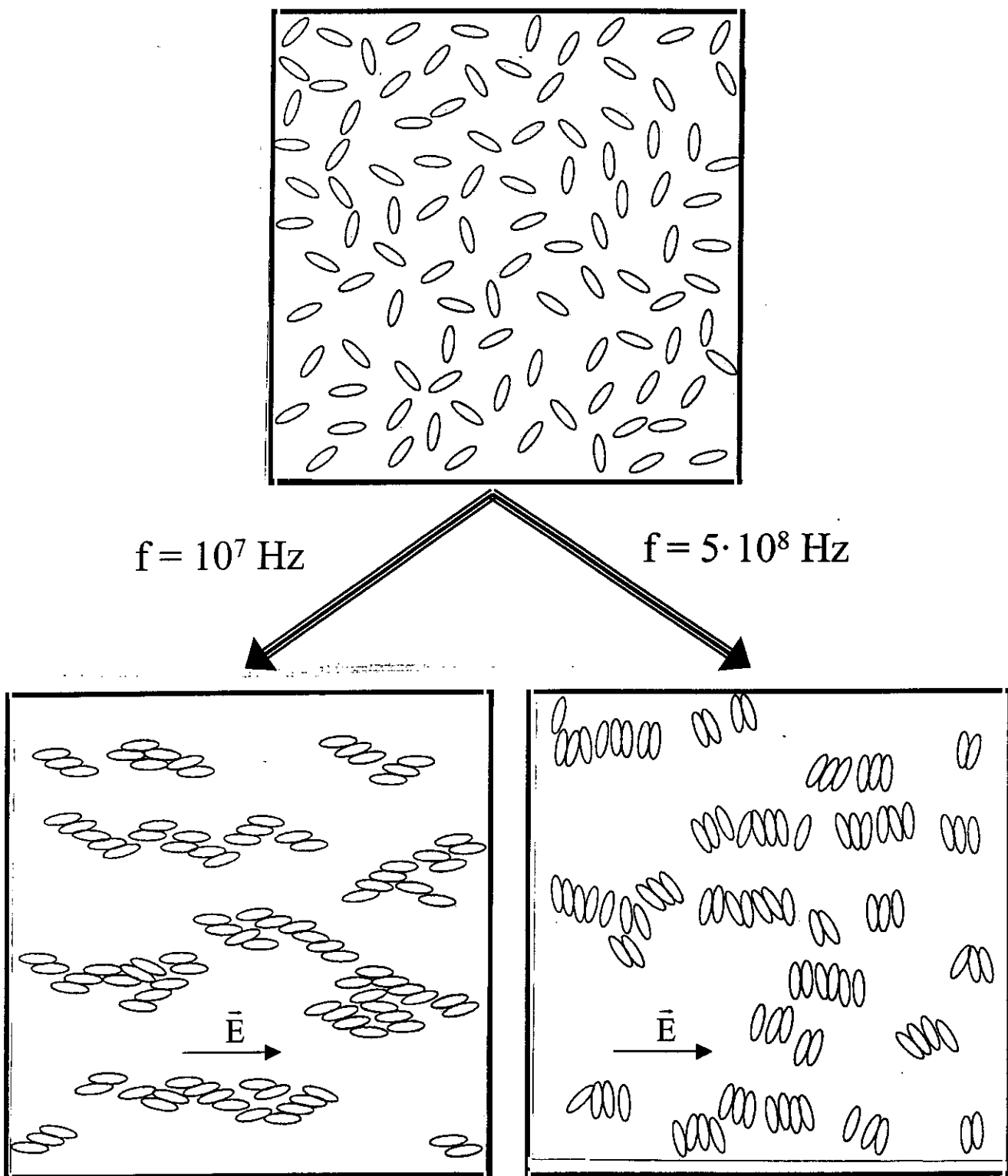


Figura 2.11. Resultados gráficos de la simulación de Montecarlo para el caso partículas elipsoidales. Los parámetros eléctricos y dieléctricos son los de eritrocitos de llama. La intensidad de campo aplicado es de 10^3 Vm^{-1} . Se muestran las dos posibles configuraciones para las frecuencias de campo indicadas.

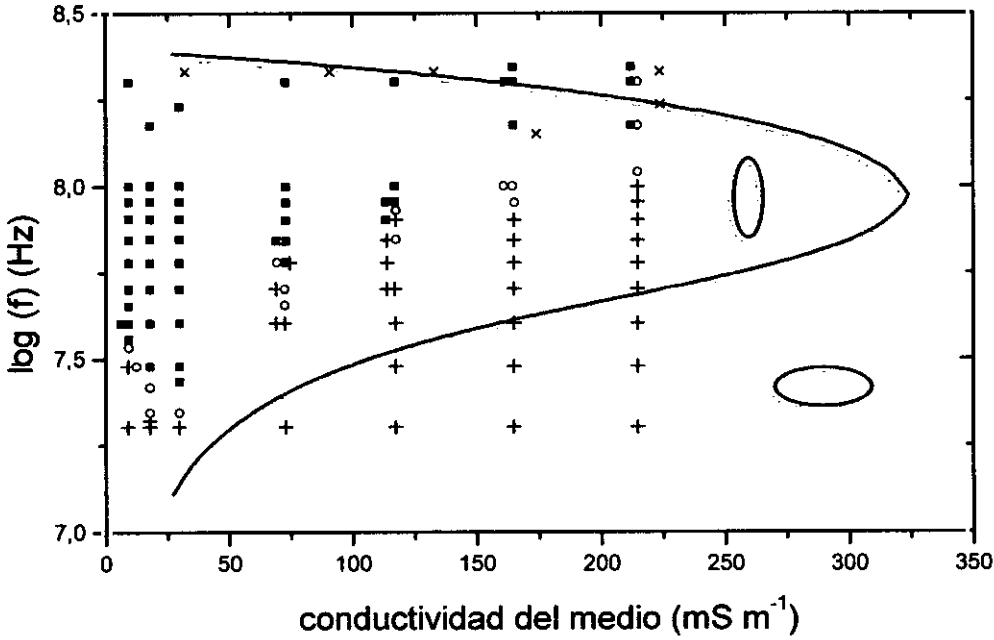


Figura 2.12. Espectro orientacional para eritrocitos de llama en una solución isotónica de sacarosa y CaCl_2 en concentración variable. La línea indica las frecuencias teóricas de giro. Los símbolos representan las observaciones experimentales [25,26]. Orientaciones (□) Transversal. (+) Paralela. (o) Mixta. (x) Incierta

2.5.2 Dependencia de la dirección de encadenamiento con la excentricidad de las partículas

A la vista de los resultados de la simulación para las frecuencias (véase figura 2.11) a la que se obtiene una orientación de las partículas en la dirección del campo aplicado, observamos que las cadenas no se forman en la dirección del mismo, como era el caso de partículas esféricas, sino que forman un cierto ángulo de encadenamiento con éste. Esta desviación en la dirección de encadenamiento es una característica propia de la agregación de partículas elipsoidales, y como veremos depende de su excentricidad a partir de un cierto valor umbral.

La energía de interacción con el campo externo polarizante determina la orientación de las partículas. Una vez orientadas las partículas tienden a agregarse, pero manteniendo esta orientación. Estudiemos cual es el perfil de energía que una partícula elipsoidal polarizada por el campo externo experimenta cuando se desliza sobre otra partícula idéntica y polarizada por el mismo campo externo. En nuestra aproximación dipolar este problema es equivalente a estudiar la energía de interacción entre dos dipolos puntuales, cuando manteniendo uno fijo el otro describe la misma trayectoria que el centro de una elipse que se desliza sobre otra fija cuando se mantienen sus ejes paralelos. Resolvamos pues este problema geométrico. Sean las dos elipses iguales con semiejes mayor y menor de valores a y b respectivamente. Centremos una de ellas en el origen $(0,0)$ y hagamos a la otra deslizar sobre esta tomando su centro coordenadas (x_0, y_0) que serán precisamente las incógnitas que queremos determinar. Las dos elipses quedan representadas en ecuaciones paramétricas por:

$$x = a \cos \phi ; y = b \sin \phi$$

$$x - x_0 = a \cos \phi ; y - y_0 = b \sin \phi$$

Queremos hallar todos los puntos que verifican estas dos ecuaciones simultáneamente. Igualándolas obtenemos:

$$x_0 = a (\cos \phi - \sin \phi)$$

$$y_0 = b (\sin \phi - \cos \phi)$$

Aprovechando la simetría del problema (figura 2.12) vemos que para el punto de contacto los parámetros ϕ y ϕ deben verificar la relación: $\phi = \pi + \phi$.

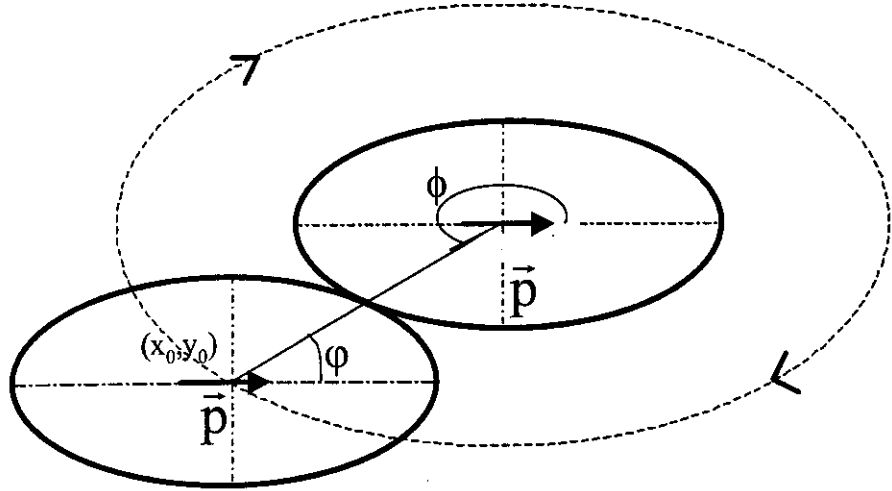


Figura 2.12 Posibles posiciones de contacto entre dos partículas elipsoidales polarizadas por un mismo campo externo. Se ve la relación de simetría $\phi = \pi + \varphi$.

Por lo tanto sustituyendo esta relación de parámetros, obtenemos que el lugar geométrico de los centros viene dado por:

$$x_0 = a [\cos \varphi - \cos(\varphi - \pi)] = 2 a \cos \varphi \quad ; \quad y_0 = b [\sin \varphi - \sin(\varphi + \pi)] = 2 b \sin \varphi$$

Estas ecuaciones representan una elipse de semiejes $2a$ y $2b$.

Ahora estamos en condiciones de analizar la energía de interacción entre las dos partículas en contacto, dependiendo de su posición relativa. Fijadas las características eléctricas del sistema, la energía solo depende del factor geométrico:

$$F(\theta) = \frac{1 - 3 \cos^2 \theta}{R^3}$$

con: $R = [4a^2 \cos^2 \varphi + 4b^2 \sin^2 \varphi]^{1/2}$; $\cos \theta = 2a \cos \varphi / R$.

En la figura 2.13 se representan diferentes perfiles energéticos dependiendo de la excentricidad de la elipse: $e = \frac{b}{a}$

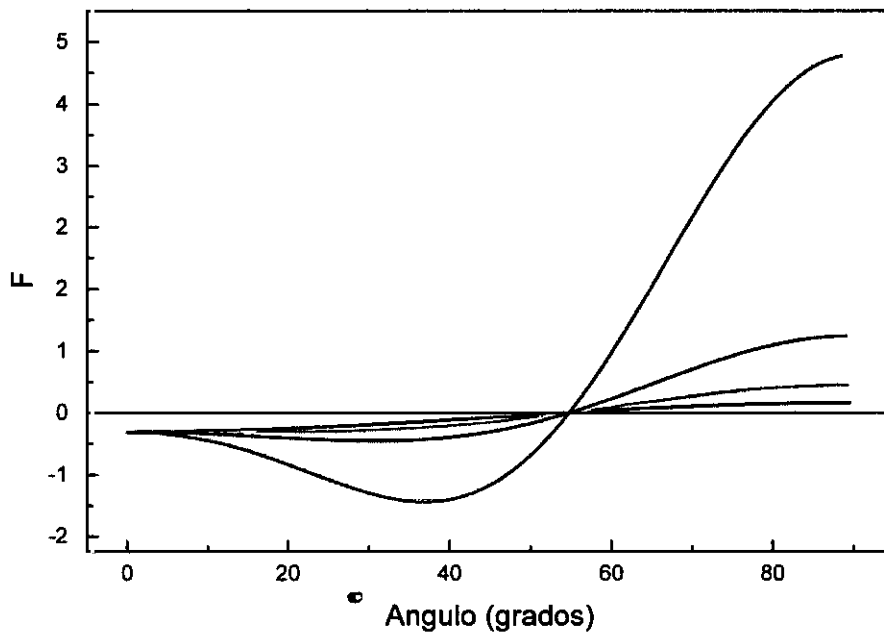


Figura 2.13. Dependencia del factor geométrico de la energía en unidades arbitrarias con el ángulo de contacto para diferentes excentricidades. (—) $e = 1$; (—) $e = 0.7$; (—) $e = 0.5$; (—) $e = 0.3$.

Como podemos ver en la figura 2.13, dependiendo de la excentricidad pueden aparecer mínimos de energía para ciertos ángulos. Las posiciones de estos mínimos vendrán dadas por los valores del parámetro $\theta_0 = \cos^{-1} \frac{x(\theta_0)}{R(\theta_0)}$ para los cuales $dE/d\theta = 0$ con $d^2E/d\theta^2 > 0$. Otra alternativa es plantear el problema en forma de extremos condicionados por multiplicadores de Lagrange. Queremos estudiar los máximos y mínimos de:

$$E(x, y) = 1 - 3(x/R)^2 / R^3 \quad , \quad R = (x^2 + y^2)$$

sujetos a la ligadura:

$$g(x, y) = \frac{x^2}{a^2} + \frac{y^2}{b^2} - 1 = 0$$

para lo cual planteamos el sistema: $\vec{\nabla}E - \lambda \vec{\nabla}g = 0$; $g = 0$

Ninguno de estos dos planteamientos parece tener solución analítica, debido a lo cual recurrimos a solución numérica utilizando MathCAD 6.0 Plus, Mathsoft Inc. En la figura 2.14 se representa el ángulo de contacto, correspondiente al mínimo de energía, en función de la excentricidad de las partículas.

Se puede observar que existe un valor umbral de excentricidad en 0.7, por debajo del cual la dirección de encadenamiento se desvía de la dirección del campo aplicado. Por otra parte, existe un valor límite o de saturación, del ángulo de contacto, en torno a 39° , para la formación de cadenas de elipsoides polarizados longitudinalmente por el campo externo.

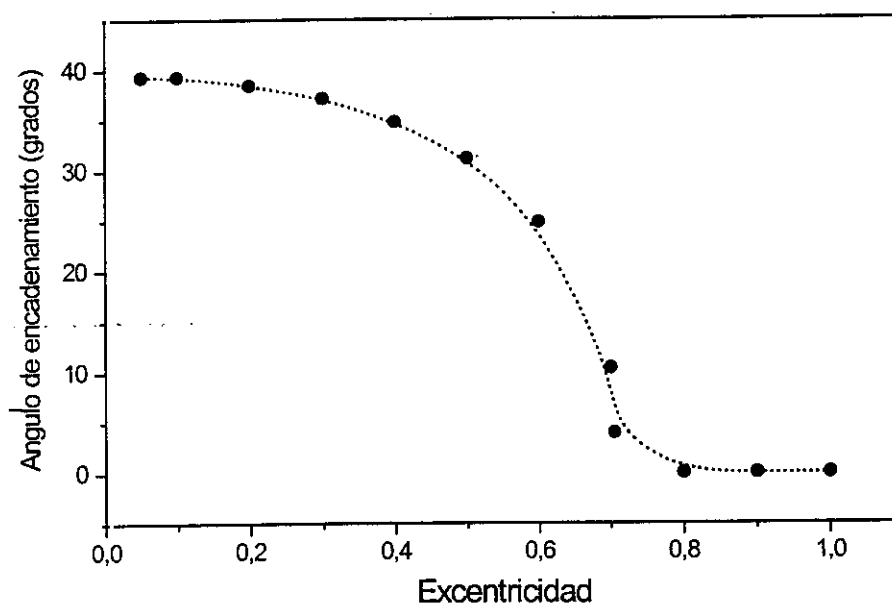


Figura 2.14. Ángulo de encadenamiento de partículas elipsoidales en función de su excentricidad.

Aunque de manera especulativa se puede comentar que existen indicios experimentales de este fenómeno. En los experimentos que describiremos en el capítulo siguiente y cuyos resultados se muestran en las figuras 3.6 a 3.15 se pueden observar numerosas parejas de partículas con perfiles claramente no esféricos, emparejadas en direcciones no paralelas a las líneas del campo aplicado. En el momento actual se está realizando un estudio experimental de esta influencia de los factores de forma en la agregación de suspensiones de células elipsoidales.

2.6 Conclusiones

En este trabajo se ha estudiado la agregación de partículas inducida por campos de radiofrecuencia. Se ha desarrollado una teoría para la interacción de partículas con pérdidas en un medio conductivo. Mediante la incorporación de esta teoría a un esquema de Montecarlo, se ha comprobado que las simulaciones por ordenador predicen la formación de estructuras que muestran una muy buena correlación con las observaciones experimentales.

El modelo es útil para analizar la influencia de diversos parámetros, tales como: los coeficientes constitutivos del medio y las partículas, así como la frecuencia y la intensidad del campo aplicado, en las propiedades de agregación de las partículas. El método predice la existencia de un umbral de intensidad de campo necesario para el inicio de la formación de cadenas, cuya magnitud coincide con el de estimaciones teóricas independientes.

Se ha extendido el modelo con el fin de incluir en el estudio partículas con geometría elipsoidal, se ha encontrado una concordancia razonable entre la simulación y los experimentos existentes, mostrando a la simulación como una

herramienta útil en el análisis de suspensiones de partículas elipsoidales. Así mismo se ha solucionado el problema del solapamiento de partículas en simulaciones de partículas elipsoidales y se han encontrado resultados interesantes e inesperados, como una dependencia de la dirección de encadenamiento con la excentricidad de la partícula. Un aspecto interesante en el estudio de sistemas con múltiples partículas, es la aparición de comportamientos colectivos que diferencian las respuesta que una partícula individual aislada muestra frente a un determinado estímulo de la que se observa cuando el mismo estímulo es aplicado a un conjunto de partículas. En el caso de una suspensión de partículas elipsoidales bajo la acción de un campo eléctrico de radiofrecuencia cabe preguntarse, si la orientación de inducida por el campo será diferente para los casos de una partícula aislada o una suspensión de ellas. Una rápida inspección de la función que determina la energía de un par de partículas encadenadas (ver ecuaciones 2.4 y 2.19), nos muestra que el término dominante, es el dependiente de la interacción con el campo polarizante. Este último depende de α_{ef} que es del orden de 10^{-26} Fm^2 , mientras que la energía de interacción entre partículas depende de α_{ef}^2 , lo cual refleja que las interacciones mutuas son despreciables para el efecto de electroorientación. Sin embargo para el caso de partículas con momentos dipolares permanentes (por ejemplo micropartículas elipsoidales de TiO_2) si que podrían darse efectos de interacción entre partículas dominante, dependiendo de la intensidad del campo aplicado.

Este trabajo es un paso en el afianzamiento de la comprensión fundamental de los factores involucrados en la agregación dielectroforética. Todas las aproximaciones tomadas en el modelo son razonables, aunque dos extensiones del modelo permanecen bajo estudio, primero la inclusión en el hamiltoniano de los términos producidos por momentos eléctricos de orden superior en las partículas

polarizadas. Estos efectos multipolares pueden tener importancia en aplicaciones de dielectroforesis en las que se emplean campos con gradientes intensos. Segundo, el análisis de efectos dinámicos, teniendo en consideración la interacción mecánica de las partículas con el medio a través de un coeficiente de fricción ya que ello permitiría el estudio de efectos con dependencia temporal en la formación de cadenas. En un capítulo posterior se lleva a cabo un estudio relativo a este último punto.

2.8 Bibliografía

1. J.L. Griffin and C.D. Ferris, *Nature* 226, 152 (1970)
2. H.A. Pohl, *Dielectroforesis* (Cambridge University Press, London, 1978)
3. K. R. Foster, F. A. Sauer, and H. P. Schwan, *Biophys. J.* 63, 180 (1991)
4. F.A. Sauer *Interactions between Electromagnetic Fields and Cells*, editado por A. Chiabrera, C. Nicholini y H. P. Schwan (Plenum, New York, 1985) p.181.
5. T.B. Jones, *J. Electrostat.* 6, 69 (1979)
6. M. Saito and H.P. Schwann, *Biological Effects of Microwave Radiation*, editado por M.F. Peyton (Plenum, New York, 1961), Vol. 1, p. 85
7. D. Wei and G. N. Patey, *Phys. Rev. Lett.* 68, 2043 (1992)
8. D. Levesque and J.J. Weis, *Phys. Rev. Lett.* 68, 2043 (1992)
9. M. Fikus, P. Marszaleck, S. Rozycki, and J.J. Zielinsky, *Stud. Biophys.* 119, 73 (1987).
10. N. Metropolis, A. Rosenbluth, M. Rosenbluth, A.Teller and E. Teller, *J. Chem. Phys.* 21, 1087 (1953)

11. R. W. Chantrell, A. Bradbury, J. Popplewell and S. W. Charles, J. Phys. D 19, 469 (1986)
12. M. Warner and R. M. Honreich, J. Phys. A 18, 2325 (1985)
13. P. Davies, J. Popplewell , G. Martin, A. Bradbury and R. W. Chantrell, J. Phys. D 19, 469 (1986)
14. E. Berggren, C. Zannoni, C. Chiccoli, P. Pasini and F. Semeria, Chem. Phys. Lett. 197, 224 (1992) ; Phys. Rev. E 49, 614 (1994)
15. J. L. Mordell, Proc. Cambridge Phil. Soc. 24, 412 (1929).
16. Zimmerman and J. Vienken, J. Membrane Biol. vol. 67, 165-182 (1982)
17. Zimmerman, J. Vienken and G. Pilwat, Investigative Microtechniques in Medicine and Biology, J. Chayen and L. Bitensky eds. New York Marcel Dekker, 89-167,1984
18. J.P.H. Burt, T.A.K. Al-Ameen and R. Pethig. J. Phys. E 22, 952 (1989)
19. P. Marszaleck, J.J. Zielinsky, M. Fikus and Tian Y. Tsong, Biophys. J. 59, 982 (1991)
20. H. A. Pohl and J. S. Crane, J. Theor. Biol. 37, 1 (1972)
21. J.S. Crane and H.A. Pohl, J. Theor. Biol. 37, 15 (1972)
22. Asami, K. ,Hanai, T. and Koizumi, N. , Japanese Journal of Applied Physics, Vol. 19, No. 2, (1980)
23. Electromechanics of particles, T. B. Jones, Cambridge University Press, pp.141, (1995)
24. Electrodinámica de los medios continuos, Landau y Lifschitz, Ed. Reverté, pp.50-54, (1981)
25. Miller, R.D. and T.B. Jones , Biophys. J. , 64, (1993)

26. Miller, R.D. and T.B. Jones , Proc. of IEEE/EMBS Annual meeting Boston, Mass., (1987)
27. Electromechanics of particles, T. B. Jones, Cambridge University Press, pp.126, (1995)

Capítulo 3

MECANISMOS DE AGREGACION EN SUSPENSIONES BINARIAS

INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

3.1 Introducción

A principios de los años 70, se citó como hecho inusual e inexplicado la formación de cadenas con orientación transversal a la dirección del campo aplicado. El fenómeno tuvo lugar en un experimento de dielectroforesis sobre una suspensión binaria, en la que se hallaban presentes dos clases de partículas distintas [15]. Este fenómeno ha permanecido incomprendido hasta la fecha. En este trabajo se investiga experimentalmente la formación de cadenas en suspensiones binarias. Así mismo se extiende la teoría desarrollada para el tratamiento de suspensiones conductivas con el fin de encontrar el fundamento físico de la orientación transversal de cadenas, y se demostrará que es debido al desfase relativo entre los dipolos inducidos en ambas clases de partículas con diferentes propiedades eléctricas.

3.2 Teoría de la interacción en suspensiones binarias

Consideremos una suspensión binaria de partículas esféricas con capa, denotaremos los dos tipos de partículas, como de tipos a y b.

Los momentos dipolares inducidos en ambos tipos de partículas serán:

$$\vec{p}_{a,b} = \alpha_{a,b} \vec{E}_0 \quad (3.1)$$

donde $\alpha_{a,b}$ son las respectivas polarizabilidades complejas y \vec{E}_0 es el campo aplicado.

Para obtener las polarizabilidades se han considerado los modelos de partículas detallados en el apéndice, con su permitividad equivalente asociada de tal modo que:

$$\alpha_{a,b} = 4\pi r_{a,b}^3 \epsilon_1 \frac{\epsilon_{a,b} - \epsilon_1}{\epsilon_{a,b} + 2\epsilon_1} \quad (3.2)$$

donde $r_{a,b}$ indica los radios de las partículas a y b respectivamente y $\epsilon_{a,b}$ las correspondientes permitividades equivalentes; ϵ_1 es la permitividad del medio. Todas las permitividades son valores complejos de la forma, $\epsilon_i = \epsilon'_i - j \frac{\sigma_i}{\omega}$ siendo σ_i las conductividades respectivas.

Aunque el sistema es intrínsecamente disipativo se demostró en el capítulo anterior que es posible la definición de una energía potencial de interacción entre partículas. Si consideramos dos partículas de las clases a y b , situadas en posiciones \vec{r}_i, \vec{r}_j entonces la energía instantánea de la partícula a debida a la b , es la energía del dipolo inducido (por el campo externo) en a , bajo la acción del campo eléctrico creado por el dipolo inducido en la partícula b y viene dada por: $-\text{Re}\{\vec{p}_a\} \cdot \text{Re}\{\vec{E}_b(\vec{r}_i)\}$ donde $\vec{E}_b(\vec{r}_i)$ es el campo creado por el dipolo b en la posición ocupada por el dipolo a . Con fines prácticos interesa evaluar la energía promedio en un periodo que viene dada por: $-\frac{1}{2} \text{Re}\{\vec{p}_a^* \cdot \vec{E}_b\}$ resultando finalmente una energía efectiva media de interacción dada por:

$$\bar{U}_{a,b}^{i,j} = \frac{1}{4\pi\epsilon_1} \text{Re}\{\alpha_a^* \alpha_b\} \frac{1 - 3\cos^2 \theta_{i,j}}{R_{ij}^3} E_{ef}^2 \quad (3.3)$$

donde: $R_{ij} = |\vec{r}_i - \vec{r}_j|$ y θ_{ij} es el ángulo entre \vec{R}_{ij} y \vec{E}_0 . E_{ef} es el valor eficaz del campo.

Es muy importante observar que, a diferencia de lo que ocurre con la energía de interacción en suspensiones con un sólo tipo de partículas, ahora el signo de la energía de interacción (o lo que es lo mismo, el hecho de que esta tenga carácter atractivo o repulsivo) depende de dos factores, por un lado el factor geométrico $G = \frac{1 - 3 \cos^2 \theta_{ij}}{R_{ij}^3}$

que considera la posición relativa de las partículas (al igual que en caso de un solo tipo de partículas), y por otro lado el factor eléctrico $F = \text{Re}\{\alpha_a^* \alpha_b\}$ que da cuenta de las propiedades eléctricas del medio y las partículas. F puede tomar valores positivos negativos o neutros para el caso de la interacción entre partículas de diferente clase, mientras que para la interacción entre partículas de la misma clase, tenemos:

$F = \text{Re}\{\alpha_a \alpha_a^*\} = |\alpha_a|^2$ que es siempre positivo. Este es el punto fundamental en la comprensión de la alineación transversal en suspensiones binarias. Si $F > 0$ las partículas tienden a colocarse en posiciones relativas en las que $G < 0$, con un mínimo en la energía para $\theta = 0^\circ$, este es el caso de alineamiento ordinario paralelo a las líneas de campo, y es el único posible en suspensiones con un solo tipo de partículas. Ahora bien si $F < 0$ (hecho que solo depende de las propiedades eléctricas del sistema y la frecuencia) entonces las partículas tienden a colocarse en posiciones relativas que hagan $G > 0$ para minimizar la energía, alcanzando un mínimo para $\theta = 90^\circ$, este es el caso del alineamiento de cadenas transversal al campo aplicado. Este tipo de orientación solo se puede dar entre partículas de distinto tipo, y además es necesario que en la cadena las partículas diferentes estén colocadas alternativamente, ya que no puede haber dos partículas consecutivas del mismo tipo en este tipo de encadenamiento.

3.3 Simulación de Montecarlo

Con el fin de poder entender y cuantificar mejor el comportamiento de las suspensiones binarias, se ha estudiado el caso concreto de una mezcla de células de levadura de la especie *Saccaromices Cerevisiae* y partículas de poliestireno. Los modelos físicos de las células de levadura y las partículas de poliestireno, vienen detallados en el apéndice.

Los espectros de los factores F para ambos tipos de partículas por separado y la interacción entre ambas, esto es $|\alpha_a|^2$, $|\alpha_b|^2$ y $\text{Re}\{\alpha_a^* \alpha_b\}$, de acuerdo con la ecuación 3.2, se pueden ver en la figura 3.1.

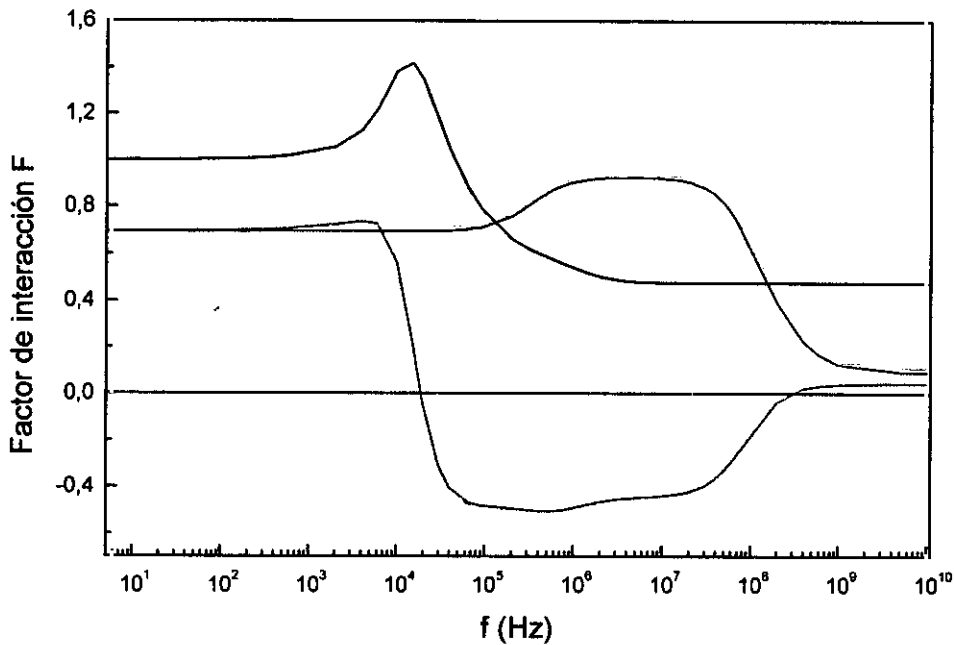


Figura 3.1. Factor F de interacción eléctrica para dos células de levadura (—), dos partículas de poliestireno (—) y levadura - poliestireno (—). En la región de F negativa es posible la agregación transversal.

A la vista de los factores F esperamos la formación de cadenas transversales en el siguiente rango de frecuencias $f \in [20 \text{ kHz} - 300 \text{ MHz}]$ donde encontramos una F mixta negativa.

Para poder cuantificar los efectos, se ha llevado a cabo una simulación de Montecarlo. Esta simulación es similar a la utilizada en el capítulo anterior, pero ha sido modificada con el fin de incluir la interacción de dos tipos de partículas diferentes.

La simulación se llevó a cabo imponiendo una intensidad de campo constante de $E = 1.3 \text{ kVm}^{-1}$ y la frecuencia se varió desde los 10 Hz hasta los 10^9 Hz.

Los resultados de la simulación concuerdan bien con las observaciones experimentales de Griffin y Ferris [15] y con las realizadas por nosotros, que se detallarán en la segunda parte del capítulo. En las figuras 3.2(a) y 3.2(b) se muestran dos tipos de estructuras finales simuladas. La figura 3.2(a) muestra la formación ordinaria de cadenas a una frecuencia a la que $F > 0$. En la figura 3.2(b) se ha elegido una frecuencia a la que $F = \text{Re}\{\alpha_a^* \alpha_b\} < 0$ para poliestireno y levadura, observándose con claridad el encadenamiento transversal, así como la alternancia de partículas de distinta clase.

Con el fin de medir los diferentes procesos de agregación, se ha ampliado el concepto de conectividad, definiéndose cuatro tipos posibles de conectividad en una suspensión binaria: CLL (conectividad longitudinal para levadura), CLP (conectividad longitudinal para poliestireno), CLLP (conectividad longitudinal para levadura-poliestireno), CTLP (conectividad transversal para levadura-poliestireno). A estas conectividades direccionales contribuyen las partículas en contacto según una determinada dirección. A efectos prácticos se contaron como partículas conectadas

direccionalmente aquellas a distancias dentro de un intervalo $2.1r$ y un ángulo de $\pm 7^\circ$ respecto a la dirección elegida.

Mediante la simulación de Montecarlo se ha hecho un estudio de la dependencia con la frecuencia de estos cuatro parámetros los resultados se muestran más adelante, en conexión con las observaciones experimentales.

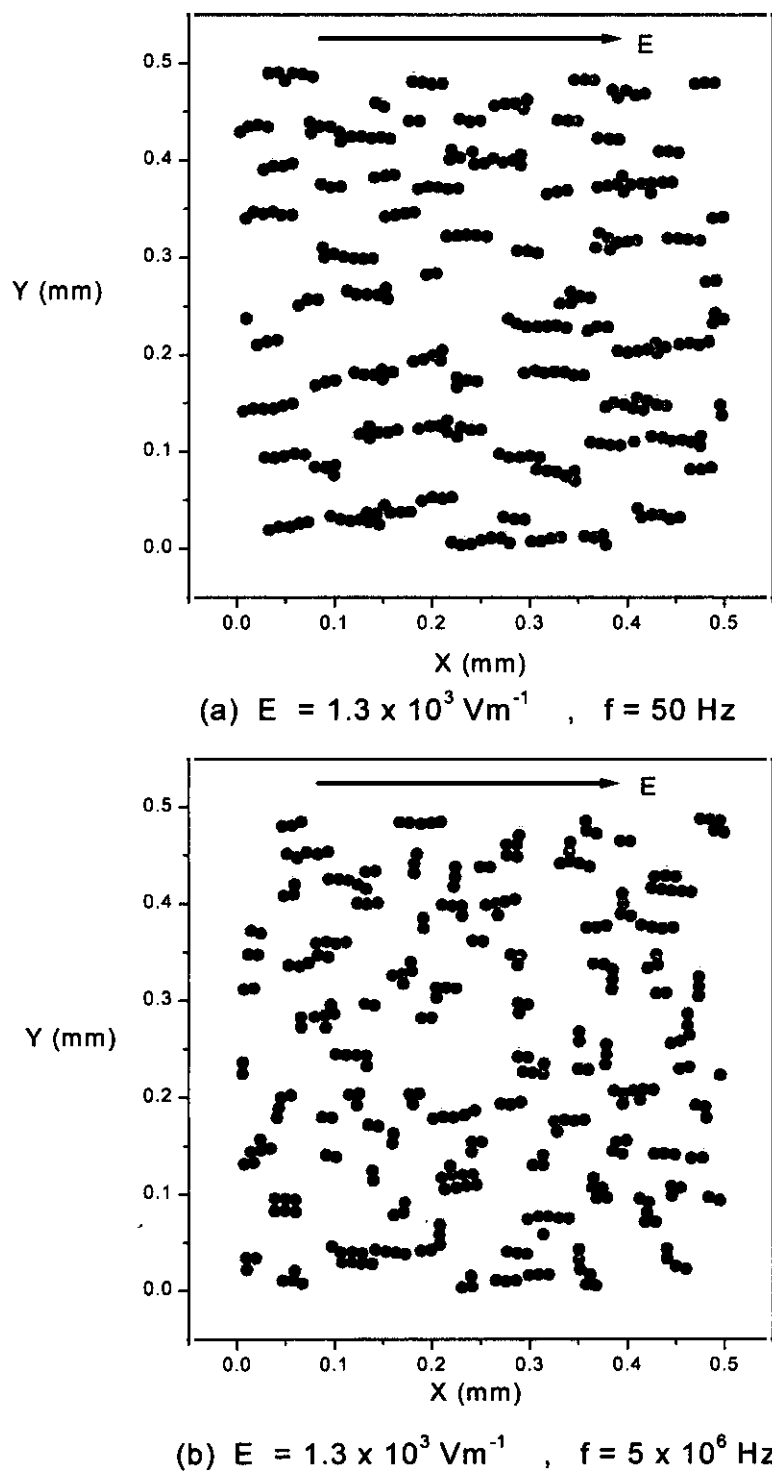


Figura 3.2. Se muestran las dos posibles estructuras de agregación en suspensiones binarias obtenidas por simulación de Montecarlo. (●) Células de levadura. (●) Partículas de poliestireno. La figura (a) muestra cadenas en la dirección del campo aplicado únicamente. En la figura (b) se observa la aparición de encadenamiento mixto en la dirección transversal.

3.4 Observaciones experimentales

Con el fin de verificar la teoría propuesta para la comprensión de los mecanismos de agregación en suspensiones binarias se llevó a cabo una serie de observaciones experimentales. El propósito del experimento fué observar la formación de cadenas transversales en una suspensión mixta de células de levadura y partículas de poliestireno, en el rango de frecuencias predicho por la teoría.

3.4.1 Montaje experimental:

3.4.1.1 Preparación de las muestras:

Preparación de la levadura: La levadura fue crecida a partir de la cepa RXII [20] mediante el siguiente procedimiento; se prepara un caldo de cultivo mediante la agregación a 0.5 l de agua de un 0.5% en peso de extracto de levadura, un 0.5% en peso de pepsina bacteriológica (con el fin de evitar que el cultivo se infecte) y un 5% en peso de sucrosa. A este caldo de cultivo se le añaden 3 gotas de levadura viva. La mezcla se introduce en la incubadora a una temperatura de 38° durante un tiempo no inferior a 16 h., es importante tomar la levadura al final de su curva de crecimiento con el fin de que el número de células en fase de gemación sea mínimo, así como el de evitar la presencia de grumos o micelas. El caldo de cultivo es un medio opaco y de muy alta conductividad, por lo tanto muy poco adecuado para un experimento de dielectroforesis; por esto, es necesario lavar la muestra a estudiar. Es importante que la conductividad del medio sea lo más baja posible, para evitar efectos de

polarización de electrodos, calentamiento de la muestra con aparición de corrientes de convección, etc; por ello se suele utilizar agua desionizada como soporte para la suspensión. El agua sin embargo, presenta el problema de ser un entorno muy desfavorable para las células de levadura ya que la presión osmótica a la que son sometidas es muy grande, haciendo que se produzca un influjo de agua al mismo tiempo que un eflujo de iones hacia el exterior, dañando la célula y haciendo que la conductividad de la suspensión se incremente considerablemente. Con el fin de subsanar este problema, las células se lavan en una solución de D-Mannitol 280M (51 g /l). El mannitol es un compuesto que simula el entorno natural de la levadura, controlando la presión osmótica y al mismo tiempo dando lugar a una conductividad muy baja. La muestra es lavada tres veces consecutivas mediante centrifugación a 12000 r.p.m. durante 3 min. La suspensión es redispersada mediante un agitador después de cada centrifugación. Una vez lavada la muestra, es diluida a voluntad mediante la adición de solución de Mannitol.

Preparación del poliestireno: El poliestireno utilizado es de Polysciences, Inc., denominado Polybead® Polystyrene Microspheres y es una suspensión acuosa de 2.5% de látex sólido. Las esferas tienen un diámetro medio de 6.125 μm , similar al de la levadura, con una desviación estándar de 0.424 μm . Para su preparación se toma una muestra de 10 gotas que se diluyen en X ml de agua desionizada dependiendo de la concentración deseada. La muestra se lava tres veces por centrifugación a 11000 r.p.m. durante 3 min. y dispersión entre centrifugados. Tras la última centrifugación el residuo se resuspende en mannitol.

3.4.1.2 Construcción de los electrodos:

La configuración geométrica elegida para los electrodos es la de dos tiras planas paralelas, montadas tal y como se muestra en la figura 3.3 . Se construyeron y probaron dos tipos de electrodos. El primer tipo fue construido mediante una técnica de fotolitografía láser; en ésta tras la creación de una máscara, se deposita sobre el portaobjetos de cristal una capa de cromo de 5 nm de grosor sobre la cual se evapora una segunda capa de 7nm de oro. El segundo tipo fue construido mediante la adhesión al cristal de cinta de cobre de 0.1 mm de grosor.

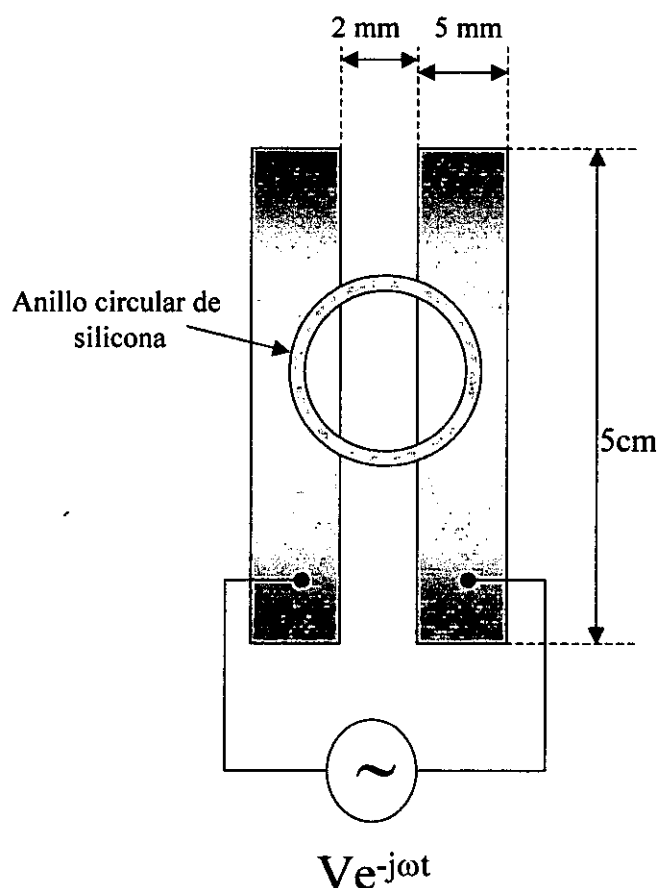


Figura 3.3. Esquema de los electrodos y la celda de medida. Los electrodos están fabricados en cobre con un espesor de 0.1 mm

3.4.2 Cálculo del campo aplicado

El cálculo del campo entre los electrodos fue llevado a cabo numéricamente mediante el programa CPO, basado en el método de momentos.

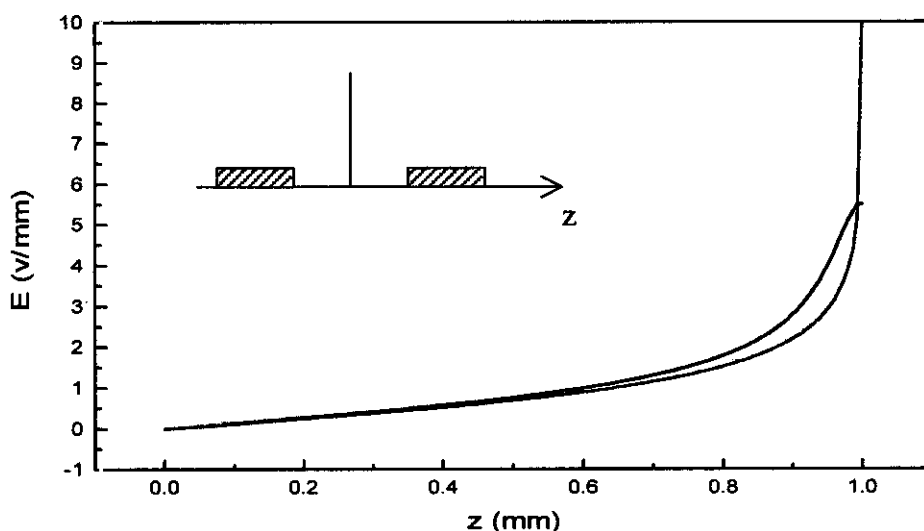


Figura 3.4. Dependencia de la intensidad de campo con la distancia al punto medio entre electrodos. La línea roja corresponde al caso de electrodos con espesor nulo mientras que la línea negra corresponde al caso de electrodos con un espesor de 0.1 mm.

Lo primero que podemos observar es que tanto para los electrodos de oro (que se aproximan al caso de espesor nulo) como los de cobre, el campo en la zona central es muy similar, aunque cerca del electrodo, en el caso de los electrodos de oro, el campo es considerablemente más alto y muestra un gradiente más intenso. Esto producía en el experimento un efecto de arrastre de las partículas en la zona cercana al electrodo, que era claramente desfavorable para el experimento; debido a esto, se decidió la utilización de los electrodos de cobre. Los posibles efectos de polarización

de electrodos no perturbaron de manera apreciable la realización de las medidas, aunque sí posiblemente los resultados cuantitativos, como se describe más adelante.

La zona de observación se localiza entre $z = 0,3$ y $z = 0,6$ mm con lo que tenemos una variación de campo entre $0,8$ y $1,5$ Vmm^{-1} . Esta variación del campo no presentó ningún problema en lo concerniente a la observación experimental.

Con el fin de aumentar el volumen de la muestra se construyó un anillo de silicona; éste permitió que el número de partículas de poliestireno sedimentadas fuera considerablemente mayor que en el caso de no utilizar el anillo; al mismo tiempo se evitaron los problemas de corrientes por desplazamientos del fluido.

El montaje experimental es el correspondiente a la figura 3.5.

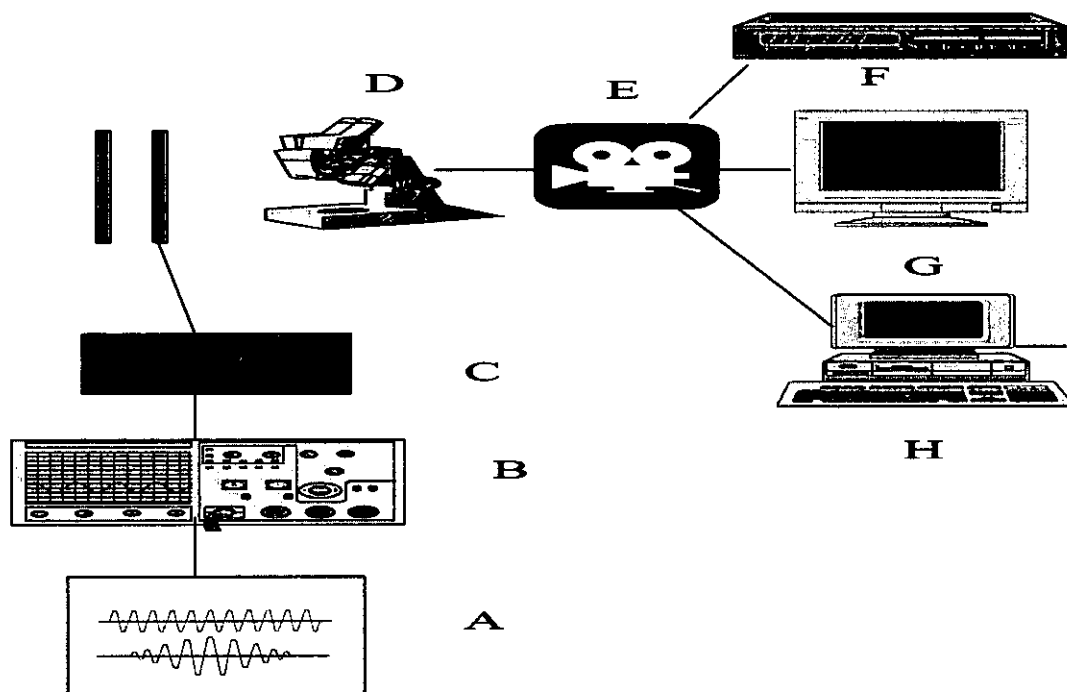


Figura 3.5. Esquema del montaje experimental utilizado en el experimento: A- Generador de señales. B- Osciloscopio. C- Frecuencímetro. D- Microscopio. E- Cámara CCD incorporada al microscopio. F- Vídeo. G- Monitor. H- Ordenador con tarjeta digitalizadora para la captura de imágenes.

3.4.4 Resultados

En las gráficas 3.6 a 3.11 vemos las configuraciones finales para un barrido de frecuencias entre 50 Hz y 1 MHz. El área que se visualiza tiene un valor de 0.3×0.3 mm. Con el fin de poder diferenciar claramente entre las partículas de poliestireno y las células de levadura, es necesaria la utilización de un objetivo sin filtro de fase en el microscopio (aun cuando el objetivo con filtro de fase se suele utilizar en experimentos con un solo tipo partículas ya que mejora notablemente la nitidez de los contornos). De lo contrario, ambos tipos de partículas, aparecen de color blanco intenso.

3.4.4.1 Análisis de imágenes

Una vez capturadas las imágenes se requiere su procesamiento con el fin de localizar las posiciones de las partículas y poder cuantificar los resultados. El análisis de las imágenes fue llevado a cabo con el programa Matrox Inspector Image Processing Software (Matrox electronic systems). La determinación de las posiciones de las partículas de poliestireno y las células de levadura requiere diferentes procedimientos. A continuación se da una somera descripción de los procedimientos seguidos en cada caso.

3.4.4.1.1 Partículas de poliestireno: El primer paso es aplicar un filtro de nivelación (~~Levering filter~~) con el fin de limpiar el fondo y mejorar el contraste; se vio que los mejores parámetros de salida para el filtro eran (0 , 75). Después se llevó

a cabo un análisis de partículas (Blob analysis), dando un valor mínimo para el área de 0 y máximo de 50, es importante hacer notar que la búsqueda debe llevarse a cabo mediante el procedimiento de suma de “píxeles”, ya que las partículas de poliestireno aparecen como negras con un punto blanco central, siendo este punto el que obstaculiza la identificación de la partícula como una sola región, la suma de píxeles de alguna manera realiza un promedio que obvia la existencia de este punto central, permitiendo la localización de las partículas. La eficacia en la localización de las partículas es del 95%, en parte debido a que las partículas colindantes al borde son despreciadas por el programa.

3.4.4.2.2 Células de levadura: La detección de las células de levadura fue mucho más costosa, debido principalmente a su mayor similitud de color con el fondo y su menor nitidez de contorno. El procedimiento de detección fue el siguiente: Primero se efectuó un incremento en el brillo y contraste de las imágenes, después se procedió al análisis de partículas, seleccionándolas mediante una discriminación de áreas, tomando área mínima de 20 píxeles y un área máxima de 60 píxeles. Se aprovechó el hecho de que las células de levadura son ligeramente más pequeñas que las partículas de poliestireno y más grandes que el ruido de fondo. Hubo que fijar el rango de intensidades, para discriminar mediante ensayo y error en cada imagen individualmente, con el fin de maximizar el número de células localizadas. La eficacia de localización de las células de levadura es de un 85% ; la principal fuente de error es su confusión con partículas de poliestireno y manchas de fondo, si los márgenes de selección se aceptan lo suficientemente anchos como para localizar la totalidad de las células de levadura.

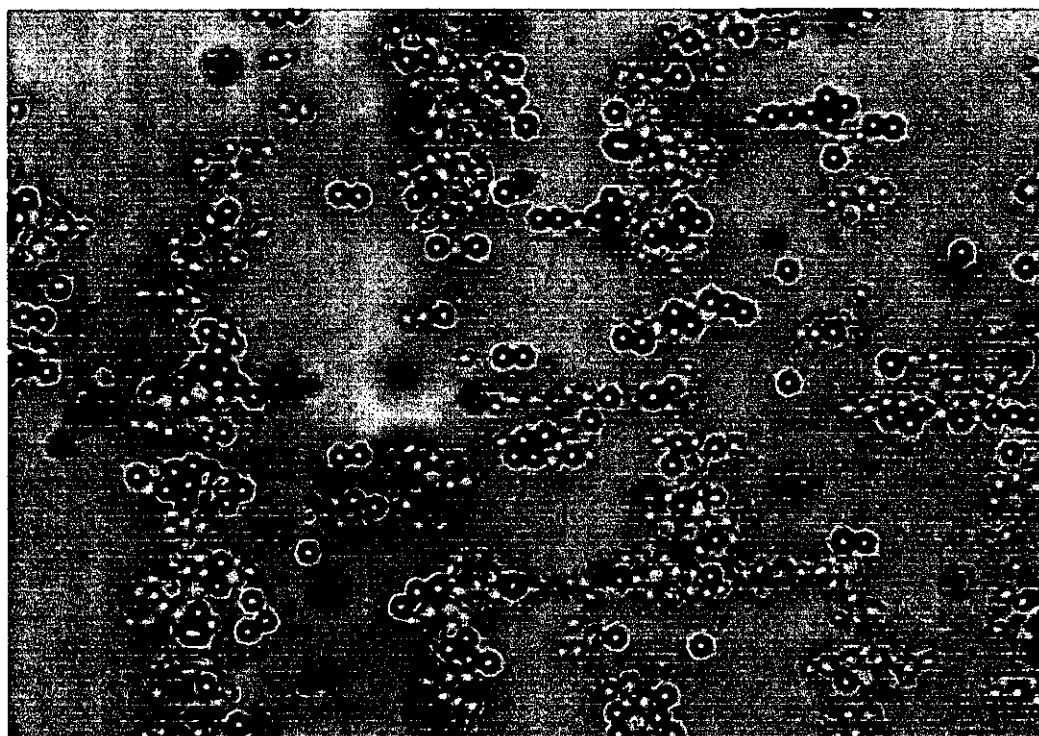


Figura 3.6. Fotografía de las estructuras finales en una suspensión mixta de partículas de poliestireno y células de levadura. La frecuencia del campo aplicado es 50 Hz. Obsérvese la presencia de encadenamiento longitudinal mixto.

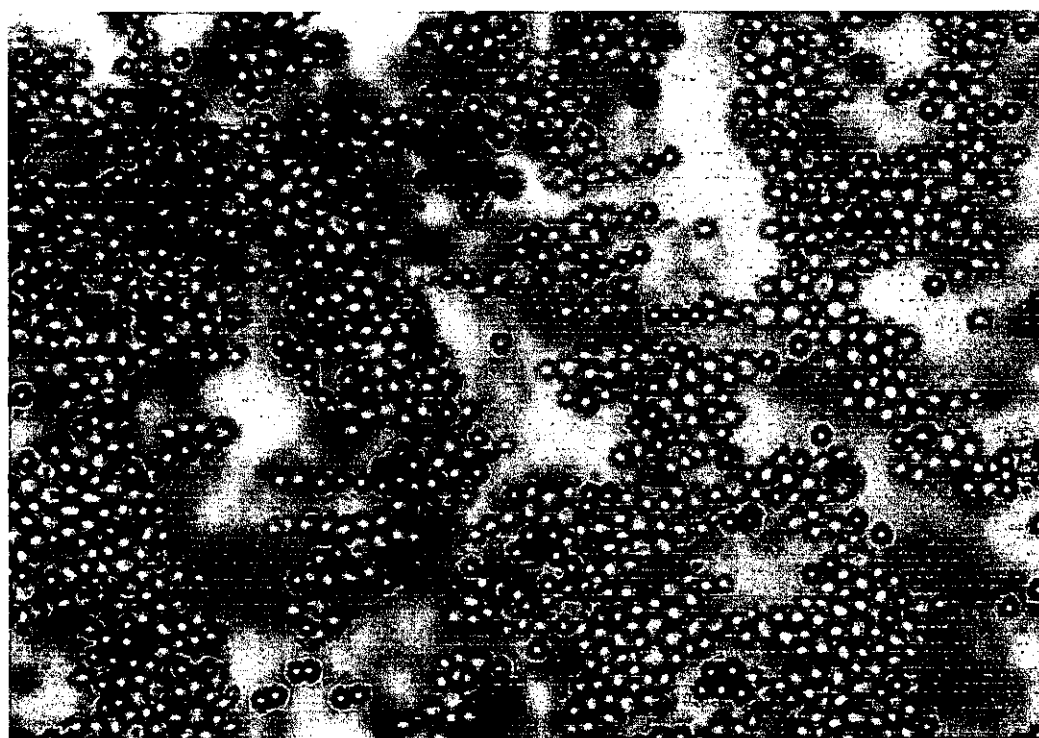


Figura 3.7. Fotografía de las estructuras finales en una suspensión mixta de partículas de poliestireno y células de levadura. La frecuencia del campo aplicado es de 100 Hz

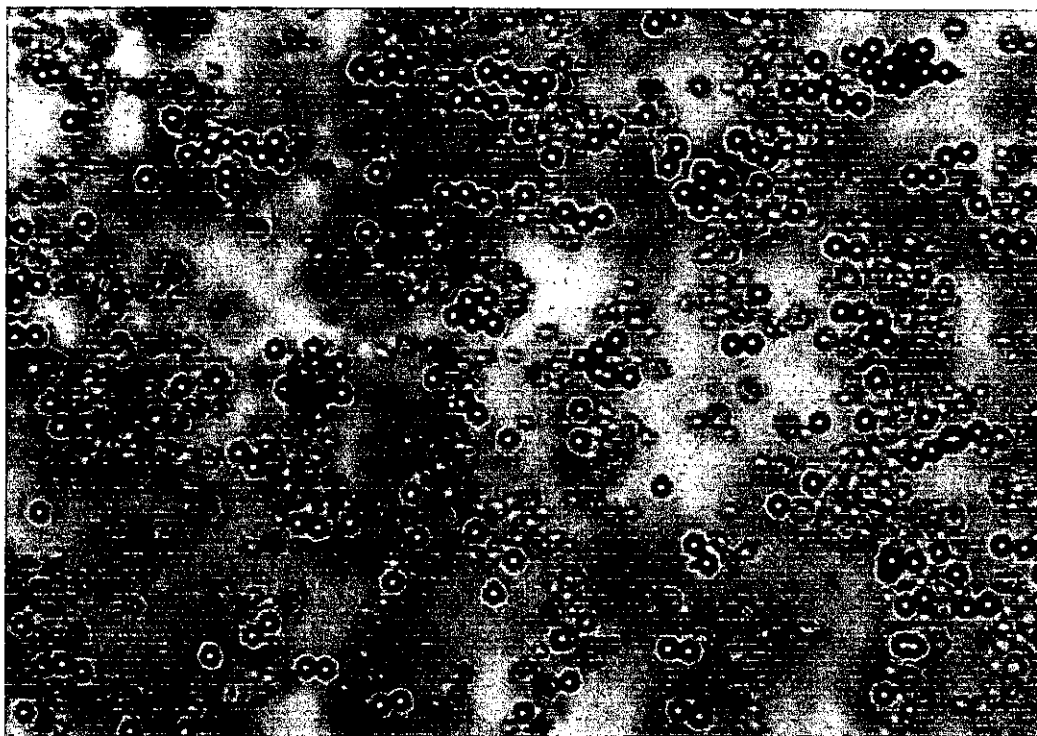


Figura 3.8. Fotografía de las estructuras finales en una suspensión mixta de partículas de poliestireno y células de levadura. La frecuencia del campo aplicado es 500 Hz.

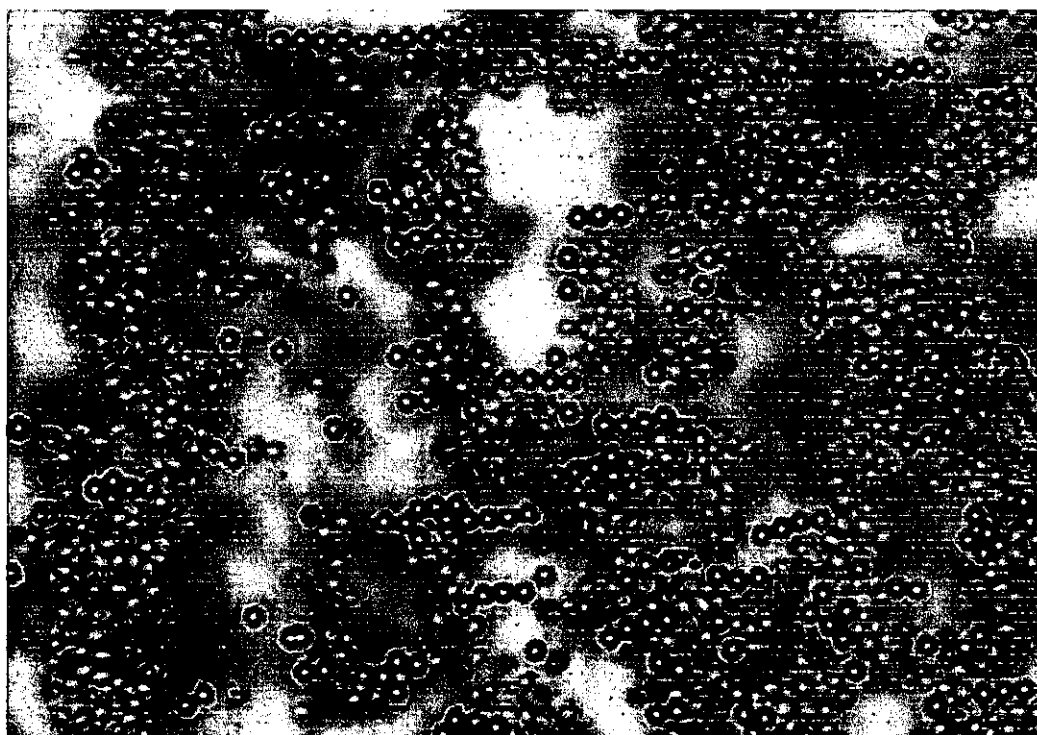


Figura 3.9. Fotografía de las estructuras finales en una suspensión mixta de partículas de poliestireno y células de levadura. La frecuencia del campo aplicado es 1 kHz.

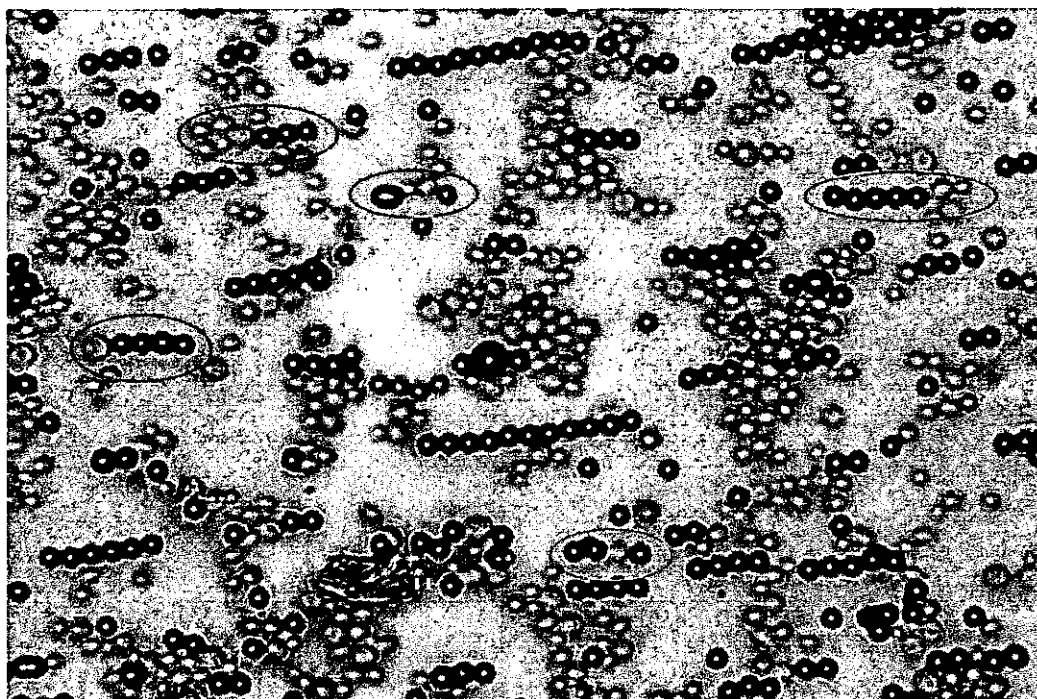


Figura 3.10. Fotografía de las estructuras finales en una suspensión mixta de partículas de poliestireno y células de levadura. La frecuencia del campo aplicado es 5 kHz. Obsérvese la presencia de encadenamiento longitudinal mixto.

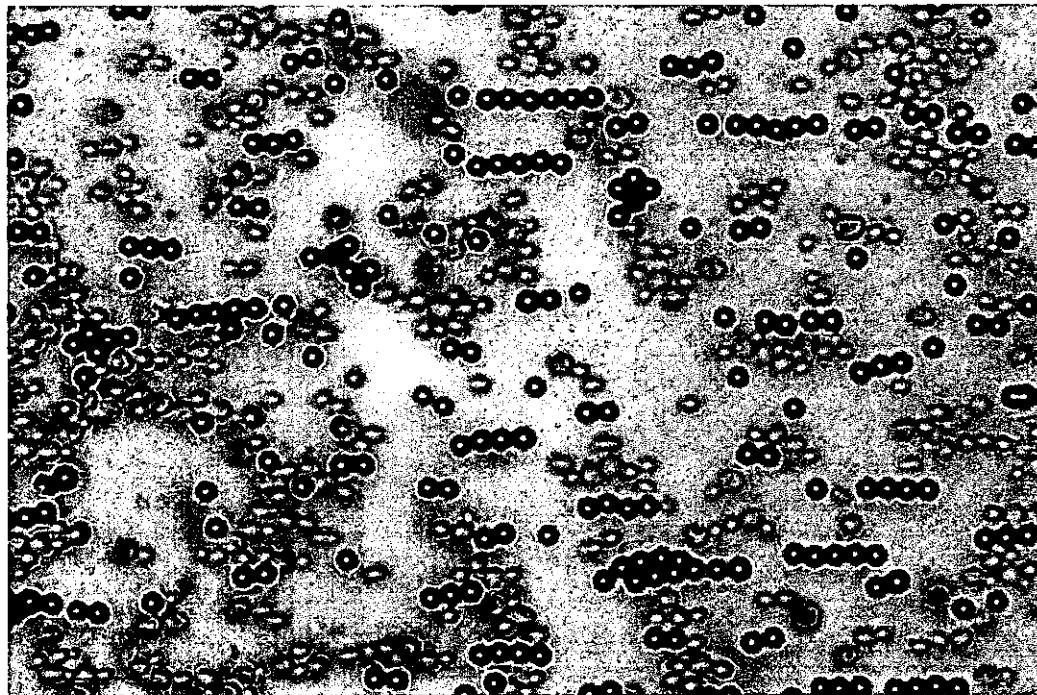


Figura 3.11. Fotografía de las estructuras finales en una suspensión mixta de partículas de poliestireno y células de levadura. La frecuencia del campo aplicado es 10 kHz. Escasea notablemente la agregación mixta, de acuerdo con la práctica anulación de la polarizabilidad efectiva para la interacción mixta.

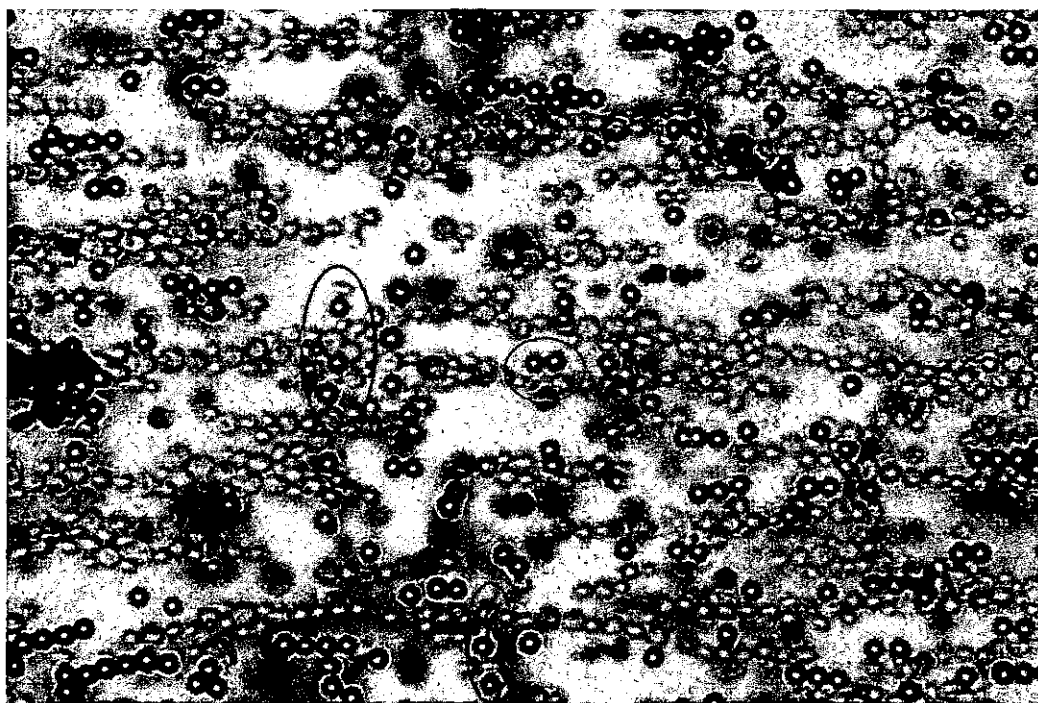


Figura 3.12 Fotografía de las estructuras finales en una suspensión mixta de partículas de poliestireno y células de levadura. La frecuencia del campo aplicado es 50 kHz. Comienza la aparición de cadenas transversales mixtas.

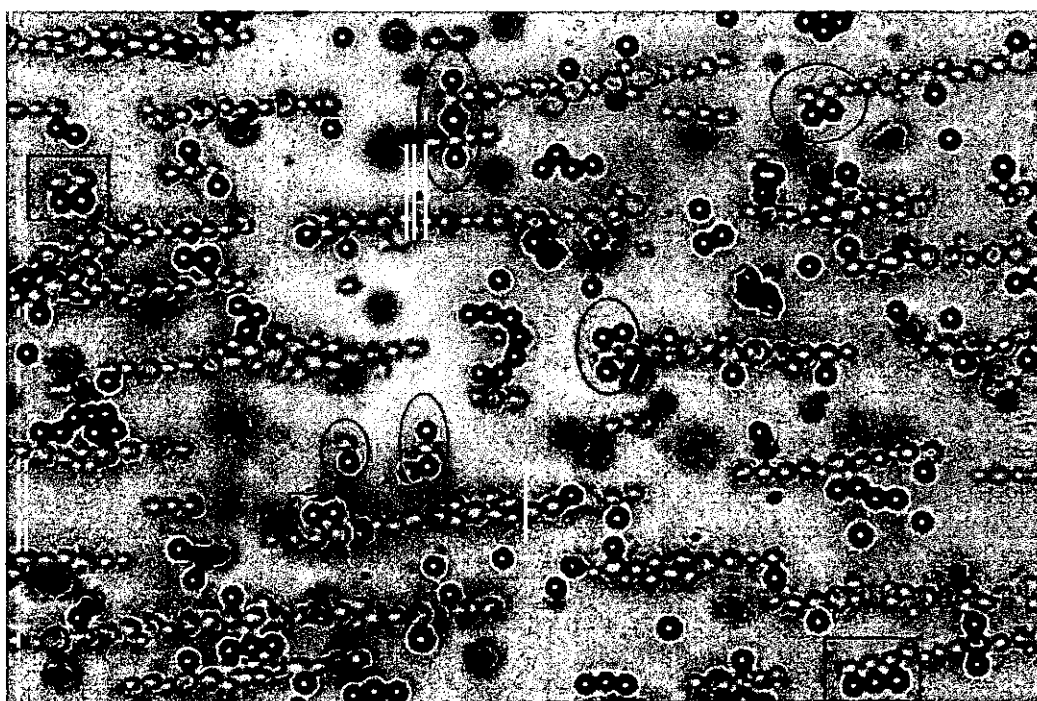


Figura 3.13. Fotografía de las estructuras finales en una suspensión mixta de partículas de poliestireno y células de levadura. La frecuencia del campo aplicado es 100 kHz. Existen múltiples cadenas transversales de tipo mixto, algunas de las cuales se han marcado sobre la fotografía. Obsérvese la alternancia de partículas de diferente tipo en las cadenas transversales. Compárese con las estructuras simuladas, mostradas en la figura 3.2.

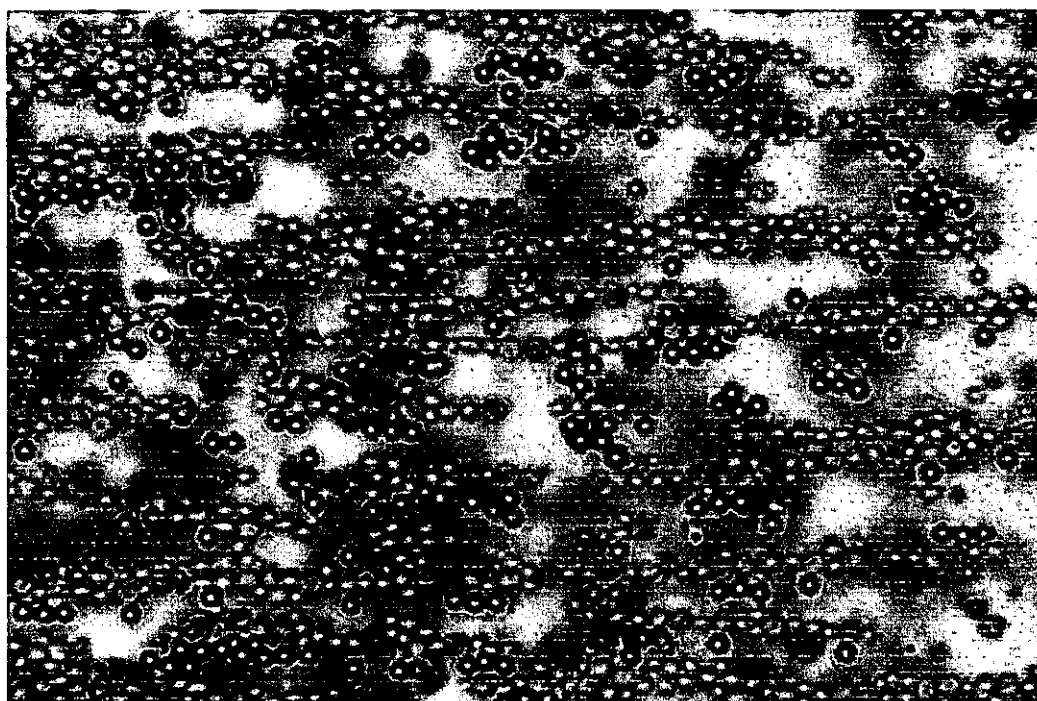


Figura 3.14. Fotografía de las estructuras finales en una suspensión mixta de partículas de poliestireno y células de levadura. La frecuencia del campo aplicado es 500 kHz.

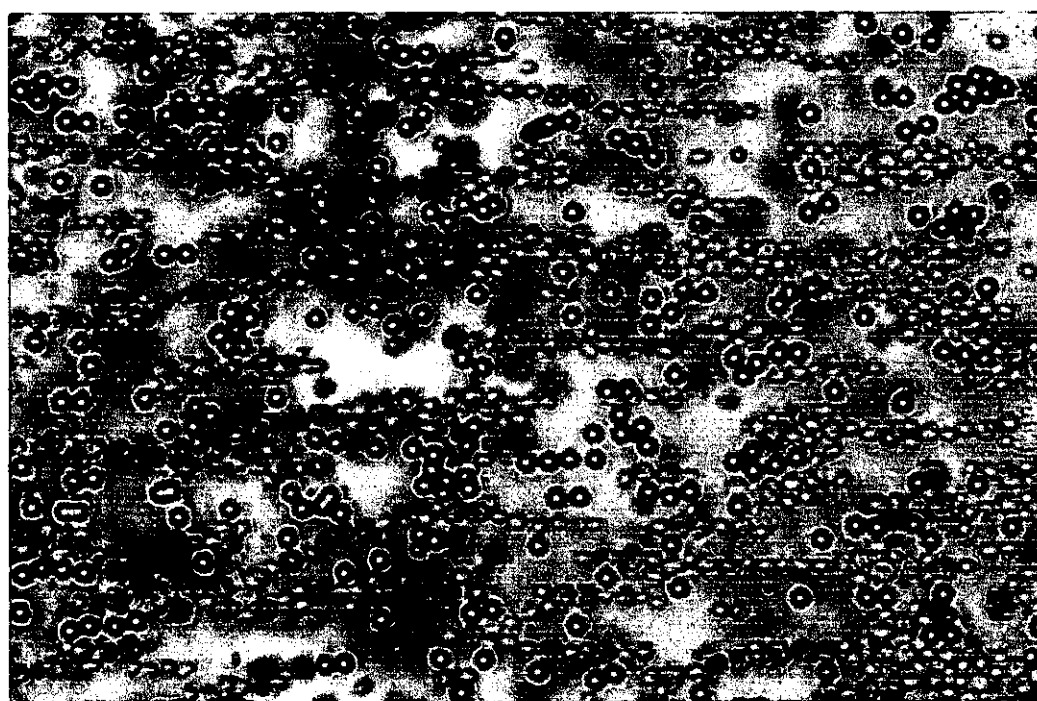


Figura 3.15 Fotografía de las estructuras finales en una suspensión mixta de partículas de poliestireno y células de levadura. La frecuencia del campo aplicado es 1 MHz.

En las gráficas 3.16 y 3.17 se dan los resultados cuantificados tanto de la simulación como del experimento. Obsérvese la diferencia de escala entre ambas figuras. Un análisis de las posibles causas de esta diferencia de magnitud se expone en el apartado 3.5.

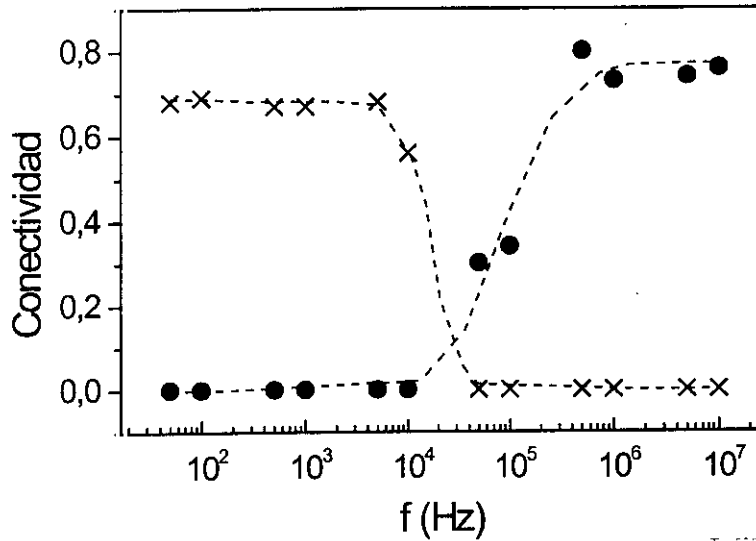


Figura 3.16. Espectros simulados para la conectividad representativa de las cadenas mixtas. (x) Encadenamiento longitudinal mixto paralelo a las líneas de campo. (•) Encadenamiento transversal.

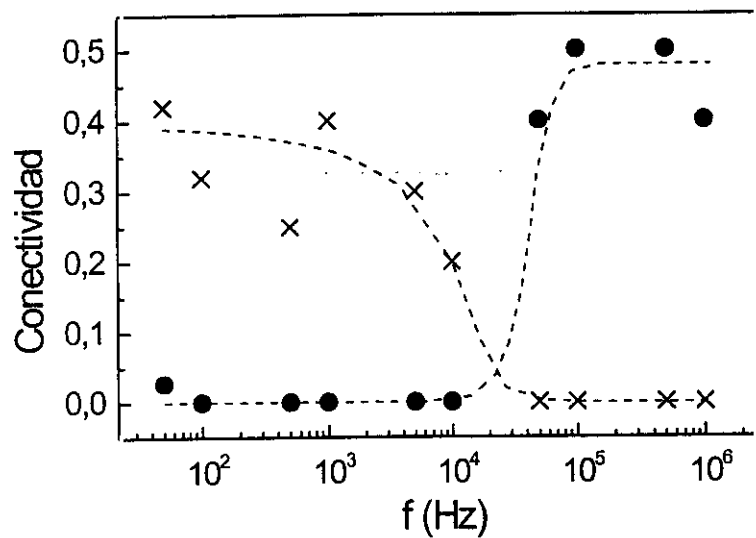


Figura 3.17. Espectros experimentales para la conectividad representativa de las cadenas mixtas. (x) Encadenamiento longitudinal mixto paralelo a las líneas de campo. (•) Encadenamiento transversal.

3.5 Conclusiones

En este capítulo hemos visto, cómo la extensión de la teoría desarrollada para la energía de interacción en sistemas disipativos, a suspensiones binarias, explica y predice las observaciones experimentales realizadas. La formación de cadenas transversales mixtas, es una consecuencia directa de la diferencia de signo entre las polarizabilidades efectivas de las partículas en el sistema, ya que la polarización por efecto Maxwell-Wagner, es la responsable del desfase relativo entre los dipolos efectivos inducidos en ambos tipos de partículas. Se ha desarrollado el montaje de un experimento con el fin de observar la formación de cadenas en dirección transversal al campo aplicado, así como realizar una comparación entre los espectros predichos por la teoría, y la cuantificación de los resultados experimentales. La teoría predice correctamente los rangos de frecuencia donde se observa el encadenamiento transversal y se obtiene un buen acuerdo en la forma de las curvas de conectividad mixta - frecuencia. Las discrepancias cuantitativas entre los valores de conectividad obtenidos para la simulación y el experimento, y de éstos con los espectros de polarizabilidad efectiva, son aceptables dada la complejidad del fenómeno. Estas discrepancias pueden ser achacadas a varias causas; en primer lugar, efectos de polarización de electrodos (recordemos que estaban fabricados de cobre) que ocasionarían que el campo real aplicado fuera menor que el calculado teóricamente, ésto haría que los valores de conectividad simulada fueran superiores a los experimentales, como así es. También pueden darse efectos de rozamiento y adherencia de las partículas sobre el fondo, así como de carga superficial, que

entorpecerían la agregación disminuyendo la conectividad final. Por otro lado pueden existir acoplamientos entre los diferentes mecanismos de agregación, haciendo, por ejemplo, que la agregación de un tipo de partículas interfiera en la agregación de las otras. Estos acoplamientos estarían directamente relacionados con la diferente velocidad de agregación de los diferentes tipos de partículas, y no pueden ser tenidos en cuenta por una simulación de tipo Monte Carlo que no considera fuerzas ni por lo tanto aceleraciones. Las posiciones de menor energía se alcanzan mediante movimientos aleatorios que no contemplan la evolución temporal. Esto último nos sugiere que sería interesante como ampliación de la investigación el estudio de la agregación en suspensiones binarias mediante simulaciones basadas en dinámica, que permiten la inclusión de los efectos citados anteriormente en el análisis. Finalmente los porcentajes de acierto en el análisis de imágenes podrían tener una influencia negativa. Debido a todos los aspectos anteriores los espectros de conectividad experimentales y simulados, no reproducirían la forma de variación de la polarizabilidad efectiva con la frecuencia de una manera tan nítida como en el caso de suspensiones de un solo tipo de partículas, visto en el capítulo anterior. Esto hace que la simulación sea una herramienta fundamental para la comprensión del comportamiento colectivo de este tipo de suspensiones, siendo insuficiente el conocimiento único de la polarizabilidad.

3.6 Bibliografía

- [1] H.A. Pohl, *Dielectrophoresis* (Cambridge University Press, London, 1978).
- [2] R. Tao and Q. Jiang, *Phys. Rev. Lett.* **73**, 205 (1994)
- [3] T.C. Halsey and W. Toor, *Phys. Rev. Lett.* **65**, 2820 (1990)

- [4] K.R. Foster, F.A. Sauer, and H.P. Schwan, *Biophys. J.* **63**, 180 (1992).
- [5] G. Fuhr, R. Hagedorn, and T. Mueller, *Studia Biophysica* **107**, 23 (1989).
- [6] U. Zimmerman and J. Vienken, *J. Membrane Biol.* **67**, 165 (1982).
- [7] G.P. Archer *et al.*, *Microbios* **76**, 237 (1993).
- [8] A. Mizuno *et al.*, *IEEE Trans. Ind. Appl.* **31**, 464 (1995).
- [9] V. Giner, M. Sancho, and G. Martínez, *Am. J. Phys.* **63**, 749 (1995).
- [10] K.V. Kaler and T.B. Jones, *Biophys. J.* **57**, 173 (1990).
- [11] M. Sancho, V. Giner, and G. Martínez, *Phys. Rev. E* **55**, 544 (1997).
- [12] M.J.P. Gringras, P.C.W. Holdsworth and B. Bergersen, *Phys. Rev. A* **41**, 6786 (1990).
- [13] D. Wei and G.N. Patey, *Phys. Rev. Lett.* **68**, 2043 (1992).
- [14] D. Levesque and J.J. Weis, *Phys. Rev. E* **49**, 5131 (1994).
- [15] J.L. Griffin and C.D. Ferris, *Nature* **226**, 152 (1970).
- [16] R. Pethig, *Dielectric and Electronic Properties of Biological Materials*, (John Wiley, New York, 1979), pp. 171-199.
- [17] V. Giner, M. Sancho, R.S. Lee, G. Martínez y R. Pethig (Aceptado en *J. Appl. Phys. D*).
- [18] N. Metropolis *et al.*, *J. Chem. Phys.* **21**, 1087 (1953).
- [19] M. Sancho *et al.*, in *Proceedings of the 9th Int. Conf. on Electrostatics, York, 1995*, edited by S. Cunningham, (Institute of Physics Publishing, Bristol, 1995), p. 159., *Inst. Phys. Conf. Ser. No 143*
- [20] X-F. Zhou, G.H. Markx and R. Pethig, *Bichim. Biophys. Acta* **1281**, 60 (1996).

Capítulo 4

EVOLUCION DINAMICA DE SUSPENSIONES CELULARES

4.1 Introducción

El comportamiento colectivo involucrado en el proceso de formación de cadenas es un problema complejo, que implica la existencia múltiples interacciones, tanto entre partículas, como entre partículas y fluido circundante. En el capítulo previo hemos estudiado los factores que afectan a las estructuras de equilibrio, usando métodos de Montecarlo. Estas simulaciones no aportan ninguna información ni acerca del camino real seguido por el sistema hasta alcanzar la situación final de equilibrio ni del tiempo requerido por el sistema para la formación de las diferentes estructuras. En este capítulo se lleva a cabo una simulación basada en dinámica browniana con el fin de analizar la evolución temporal del sistema hacia cadenas y agregados. Este es un tema que tiene una importante relación con problemas de electrorreología estudiados previamente mediante simulaciones de Monte Carlo [18-20] y simulaciones dinámicas [21,24]. Las principales características originales de este estudio son que las partículas han sido modelizadas con múltiples capas y que tanto las partículas como el medio han sido considerados disipativos. Como consecuencia de estas pérdidas el cálculo de fuerzas no ha podido ser deducido de principios de conservación y de nuevo se ha aplicado el método de la polarizabilidad efectiva, encontrándose una fuerte dependencia con la frecuencia para los diferentes procesos de agregación. También se ha analizado la influencia de otros parámetros tales como: la intensidad de campo o la concentración, para diferentes casos. Se han observado diferentes regímenes de velocidad de agregación, dependiendo de qué tipo de estructuras se estuvieran formando, parejas, cadenas o

agregados de mayor tamaño de tipo columna. Los resultados sirven de validación para el método de Monte Carlo en cuanto a las estimaciones para el estado estacionario y proporcionan nueva información en el régimen transitorio y de evolución temporal.

4.2 Consideraciones teóricas

El sistema estudiado consiste en una suspensión planar de N partículas confinadas en una celda rectangular; el sistema se supone limitado por electrodos planos en la dirección x y por condiciones de contorno periódicas en la dirección y .

Para estudiar la evolución dinámica del sistema consideramos a cada una de las partículas sometida a la acción de fuerzas de diferente naturaleza, tales como las debidas a:

- Una interacción eléctrica de tipo dipolar.
- Una interacción repulsiva de muy corto alcance.
- Una fuerza de rozamiento con el medio de carácter viscoso.
- Una fuerza de tipo Browniano, impulsiva.

A continuación se detallan formalmente cada una de estas interacciones y su influencia en la evolución del sistema.

Consideremos en primer lugar la interacción dipolar. Cuando se aplica a la suspensión un campo eléctrico de radiofrecuencia, cada una de las partículas se polariza, adquiriendo un momento dipolar dado por:

$$\vec{p} = \alpha \vec{E} \quad \text{con} \quad \alpha = 4\pi a^3 \epsilon_1' \frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1} \quad (4.1)$$

donde tanto las partículas como el medio han sido modelizadas en la misma manera que se hizo en el capítulo 2.

El momento dipolar efectivo dado por la ecuación (4.1) es una cantidad compleja que refleja la distribución de carga inducida sobre la partícula. La fuerza ejercida por un campo armónico no uniforme sobre la misma y promediada sobre un período puede calcularse, según hemos visto en el capítulo 1, como:

$$\langle \bar{F} \rangle = \frac{1}{2} \text{Re} \{ (\bar{p} \cdot \bar{\nabla}) \bar{E}^* \} \quad (4.2)$$

En general esta fuerza tenderá a mover la partícula sobre la que actúa hacia las zonas de máxima o mínima intensidad de campo (dielectroforesis positiva o negativa respectivamente), dependiendo de la fase relativa entre los vectores \bar{p} y \bar{E} , que es una función de la frecuencia y de las propiedades del medio y las partículas a través de la ecuación (4.1).

En el caso de una suspensión de N partículas entre dos electrodos paralelos que podemos suponer que producen un campo alterno homogéneo, la fuerza que actúa sobre una partícula dada por la ecuación (4.3) es debida al campo creado por las restantes partículas. Así pues, entonces la fuerza sobre una partícula localizada en (x_i, y_i) debida a otra partícula en (x_j, y_j) es:

$$F_{x_{dip}}^{i,j} = \frac{1}{2} \frac{|\alpha|^2}{4\pi\epsilon_1} \frac{3(x_i - x_j)}{r^5} \left[3 - \frac{5(x_i - x_j)^2}{r^2} \right] E^2 \quad (4.3)$$

$$F_{y_{dip}}^{i,j} = \frac{1}{2} \frac{|\alpha|^2}{4\pi\epsilon_1} \frac{3(y_i - y_j)}{r^5} \left[1 - \frac{5(y_i - y_j)^2}{r^2} \right] E^2 \quad (4.4)$$

siendo $r = [(x_i - x_j)^2 + (y_i - y_j)^2]^{1/2}$.

Esta interacción tiende a producir el encadenamiento de las partículas a lo largo de las líneas de campo y mantiene una dependencia con la frecuencia a través de $|\alpha|^2$. En este estudio se ha supuesto que el momento dipolar \bar{p} inducido en las partículas es únicamente debido a la acción del campo externo, despreciándose los efectos de polarización mutua entre partículas.

Las partículas experimentan también la acción del fluido en que se encuentran inmersas. Esta puede ser descrita por una fuerza que se compone a su vez de dos términos: en primer lugar, admitiendo un número de Reynolds bajo, existe un término de fricción viscosa dado por la ley de Stokes, que nos dice que cada partícula i experimenta una fuerza proporcional a su velocidad descrita por :

$$\bar{F}_v^i = -6\pi a \eta \frac{d\bar{r}_i}{dt} \quad (4.5)$$

siendo a el radio de la partícula y η la viscosidad del fluido.

Un segundo término viene dado por el efecto neto de las colisiones de las moléculas de la fase líquida, y está representado por una fuerza estocástica browniana $\bar{R}^i(t)$ que debe tener una correlación de ruido blanco [23], tal que:

$$\langle R_\alpha^i(0), R_\beta^i(t) \rangle = 6\pi k_B T D \delta_{\alpha\beta} \delta(t)$$

y un promedio nulo, $\langle R_\alpha^i \rangle = 0$; donde D es el diámetro de la partícula, k_B es la constante de Boltzmann y T la temperatura.

Con el fin de introducir en la simulación el proceso de choque y contacto entre partículas se ha considerado un modelo equivalente a una condición de esfera dura que da cuenta de las interacciones repulsivas de muy corto alcance, la interacción decae muy rápidamente con la distancia entre partículas, y evita que éstas se solapen

para una distancia menor de un diámetro, tal y como ocurre en la realidad. Así se ha introducido una fuerza repulsiva para dos partículas i, j localizadas en \vec{r}_i, \vec{r}_j dada por la expresión:

$$\vec{F}_{rep}^{i,j} = \frac{3|\vec{p}_i|^2}{4\pi\epsilon_1 D^4} \exp\left[-100\left(\frac{r}{D}-1\right)\right] \vec{u}_r \quad (4.6)$$

con: $\vec{u}_r = \vec{r}_i - \vec{r}_j / |\vec{r}_i - \vec{r}_j|$ y $D = 2a$.

El valor exacto del coeficiente numérico no es relevante. La fuerza repulsiva se ha hecho depender del momento dipolar y la permitividad del medio en la forma descrita con el fin de que una variación de estos parámetros no produzca una separación o un solapamiento de las partículas.

En esta simulación también se ha considerado la interacción eléctrica entre las partículas polarizadas y los conductores que constituyen los electrodos. Si consideramos un dipolo localizado en una posición (x_i, y_i) , éste inducirá una cierta carga en los electrodos situados en los planos $x = 0$ y $x = L$, y esta carga actuará a su vez sobre este dipolo y todos los demás de la suspensión. La consideración de este efecto se lleva a cabo a través del método de imágenes, en el cual un dipolo en (x_i, y_i) induce dipolos imágenes idénticos en $(-x_i, y_i)$ y $(2L+x_i, y_i)$; éstos a su vez inducen dipolos imágenes en los electrodos opuestos respectivamente, dando lugar a una sucesión infinita de dipolos imágenes situados en posiciones: $(2Lk \pm x_i, y_i)$, $k = \pm 1, \pm 2, \dots$. De esta manera cada dipolo interacciona con sus propias imágenes y con todas las de los demás dipolos de acuerdo con las ecuaciones (4.3) y (4.4).

La interacción de contacto con los electrodos se ha simulado introduciendo una interacción repulsiva adicional de la forma dada por la ecuación (4.6) entre la

partícula y sus primera y segunda imágenes de tal forma que se impide la penetración de la partícula en los electrodos.

Una vez consideradas todas las fuerzas que actúan sobre una partícula dada, podemos escribir la ecuación diferencial de movimiento que gobierna la evolución dinámica de la partícula, que resulta ser una ecuación de Langevin.

$$m \frac{d^2 \vec{r}_i}{dt^2} = \vec{F}_{\text{dip}}^i + \vec{F}_{\text{rep}}^i + \vec{F}_v^i + \vec{R}^i(t) \quad (4.7)$$

siendo m la masa de la partícula.

Con el fin de mejorar el tratamiento numérico de la ecuación (4.7), ésta es reescalada de acuerdo con las magnitudes intrínsecas del problema que son:

$$t_0 = \frac{m}{3\pi D \eta} ; F_0 = \frac{3|p|^2}{\text{Re}\{\epsilon_1\} D^4} \text{ y } \Omega = \sqrt{\frac{6\pi k_B T D \eta}{\Delta t}},$$

donde Δt será el incremento de tiempo utilizado para la integración numérica de la ecuación (4.7). Si ahora tomamos:

$$\vec{F}^i = \vec{F}_{\text{dip}}^i + \vec{F}_{\text{rep}}^i, \quad t = t_0 \cdot t^*, \quad \vec{F}^i = F_0 \cdot \vec{F}^{i*}, \quad \vec{R}^i(t) = \Omega \vec{R}^{i*}(t), \quad \vec{r}_i = D \vec{r}_i^* \text{ y sustituimos, la}$$

ecuación (4.8) queda en forma reducida como:

$$\ddot{\vec{r}} + \dot{\vec{r}} = M \cdot \vec{R}^{i*} + J \cdot \vec{F}^{i*} \quad (4.8)$$

donde : $M = t_0 \Omega / 6\pi \eta D$ y $J = t_0 F_0 / 6\pi \eta D$

4.3 Métodos numéricos y simulación

Con el fin de estudiar la evolución dinámica del sistema se ha resuelto numéricamente un sistema de N ecuaciones diferenciales acopladas del tipo (4.8) cada una de las cuales describe el movimiento de una de las partículas.

Para la integración del sistema hemos empleado dos métodos. En principio utilizamos un método de Runge-Kutta-Fehlberg con paso adaptable, pero debido a que los tiempos de computación resultaban extremadamente largos, haciendo inviable la solución práctica del problema, se pasó a la utilización de un algoritmo de integración de tipo Euler-Richardson [28], añadiéndole el término estocástico mencionado, de tal manera que en cada iteración a lo largo de la integración se sigue el siguiente método:

De la ecuación diferencial del tipo: $\ddot{x} = f(t, x, \dot{x})$ donde x es la posición, t el tiempo, \dot{x} la velocidad, pasamos a un sistema de dos ecuaciones de primer orden acopladas, que para un paso de integración Δt tienen por aproximación numérica:

$$a(t) = f(t, x, v)$$

$$v(t+\Delta t) = v(t) + a(t) \cdot \Delta t + o(\Delta t^2)$$

$$x(t+\Delta t) = x(t) + v(t) \cdot \Delta t + o(\Delta t^2)$$

donde el término de error depende de la derivada segunda.

Para este algoritmo la extrapolación de Richardson funciona de la siguiente manera: si el avance desde un instante t al siguiente $t + \Delta t$ se hace en un solo paso, entonces la aproximación al siguiente valor de la posición x viene dada por: $x_{(1)} = x + v\Delta t$, con el error asociado en x del tipo $k\Delta t^2$. Sin embargo si el avance se realiza en

dos pasos de intervalo mitad con un valor intermedio de la velocidad v' calculado en el punto medio, entonces el valor de la posición al final del intervalo es: $x_{(2)} = x + v \Delta t/2 + v' \Delta t/2$, que tiene un término principal de error para $x_{(2)}$ de $2k(\Delta t/2)^2 = k \Delta t^2/2$. Ahora podemos cancelar el término principal del error mediante la combinación: $2x_{(2)} - x_{(1)}$ para estimar x en $t + \Delta t$. Esta es la extrapolación de Richardson, que nos da:

$$x(t + \Delta t) = 2x_{(2)} - x_{(1)} = x(t) + v' \Delta t$$

Una ventaja del método es que permite el conocimiento del error aproximado en cada paso: $x_{(2)} - x_{(1)}$. El error reescalado tomando como referencia una cierta distancia x_m es: $\delta = |x_{(2)} - x_{(1)}|/x_m$, siendo el factor de escala x_m del orden de magnitud de x . En nuestro caso las magnitudes tienen valores próximos a la unidad, por tanto podemos tomar $x_m \approx 1$.

Los mismos argumentos se utilizan para el cálculo de $v(t + \Delta t)$ a partir de la aceleración, a y de la aceleración intermedia a' . Dados los valores presentes en un tiempo t , de la posición x , y la velocidad v , y paso de integración Δt , el algoritmo de integración funciona de la siguiente manera:

Si llamamos $a = f(t, x, v)$, $t' = t + \frac{\Delta t}{2}$, $a' = f(t', x', v')$, $x(t + \Delta t) = x(t) + v' \Delta t$,

$v(t + \Delta t) = v + a' \Delta t$. El error es $\delta = \max \left(\left| \{v' - v\} \frac{\Delta t}{2x_m} \right|, \left| \{a' - a\} \frac{\Delta t}{2v_m} \right| \right)$ siendo $x_m \approx v_m \approx 1$.

Fijado un error máximo admitido ε , podría realizarse una técnica de paso adaptable [30], dependiendo de $\varepsilon > \delta$, o $\varepsilon < \delta$. En nuestro caso sin embargo, debido a que en la expresión de la fuerza aparece un término de carácter aleatorio, no es teóricamente aceptable la aplicación de la mencionada técnica. Debido a este hecho, el procedimiento llevado a cabo ha sido la disminución sistemática del paso de

integración Δt , hasta encontrar un valor que asegure la convergencia del método, y la precisión de las trayectorias obtenidas. El valor de convergencia resultó ser de $\Delta t \approx 10^{-6}$ s. La necesidad de emplear un valor pequeño de Δt que asegure la fiabilidad de los resultados obtenidos, limita los tiempos de simulación realizables en la práctica. Este hecho, como es bien sabido, es un inconveniente de la simulación dinámica que es siempre altamente exigente en cuanto a tiempo de ordenador.

Es necesario aclarar que en nuestro sistema el método es aplicado en su forma vectorial, ya que nos enfrentamos a un sistema de n ecuaciones acopladas. El algoritmo se aplica a todas las partículas simultáneamente; una vez calculada la fuerza total sobre cada una de ellas debida a todas las demás en un tiempo t y en el tiempo medio t' , se procede al cálculo de nuevas posiciones y velocidades para $t + \Delta t$, aplicando el algoritmo descrito a cada partícula individualmente. La simulación corresponde a un experimento ideal en el que la suspensión de células se somete al campo alterno uniforme creado por electrodos planos separados una distancia de $300\mu\text{m}$.

En la simulación las partículas se suponen sedimentadas y constreñidas a moverse sobre un plano; por la tanto la simulación es de tipo 2D. La celda de simulación es de forma rectangular siendo más larga en la dirección y , paralela a los electrodos. La interacción eléctrica con los electrodos en la dirección x se tuvo en cuenta mediante el método de imágenes, como se vio en las consideraciones teóricas. En la dirección y no puede despreciarse el efecto que el resto de la suspensión ejerce sobre la porción simulada, ya que ello daría lugar a una sobreaproximación e incluso aglutinamiento de las partículas en el centro de la celda, al no estar su atracción compensada por el resto de la suspensión. Por ello se han impuesto condiciones de

contorno periódicas y. Así, se han colocado otras dos celdas de simulación idénticas a la original de tal manera que las partículas de estas dos celdas ocupan posiciones idénticas a las de la celda central, pero desplazadas en la dirección y en $\pm 500 \mu\text{m}$. Las partículas de estas celdas interactúan dipolarmente con las de la celda de simulación, pero sus trayectorias son réplicas de estas últimas. Se comprobó que la consideración del siguiente par de celdas más próximas en la dirección y no modificaba apreciablemente los resultados.

4.5 Resultados

Se ha llevado a cabo una simulación del comportamiento de una suspensión de células de *Neurospora Crassa*, con los siguientes parámetros dieléctricos y geométricos (véase apéndice): $\epsilon_i = 50\epsilon_0$, $\epsilon_m = 5\epsilon_0$, $\sigma_m = 0$, $a = 10 \mu\text{m}$, $d = 10 \text{ nm}$, situadas en un medio acuoso con: $\epsilon_l = 80\epsilon_0$, $\sigma_l = 5 \cdot 10^{-3} \text{ Sm}^{-1}$.

El espectro de la polarizabilidad efectiva de interacción $|\alpha|$ calculada a partir de estos valores está representado en la figura 2.5. Los valores de $|\alpha|^2$ nos dan la variación de la intensidad de la interacción entre partículas con la frecuencia del campo aplicado. Las variaciones rápidas en el espectro son debidas a las relajaciones Maxwell-Wagner entre regiones de diferente conductividad.

Los resultados de la simulación, se han cuantificado y analizado, utilizando principalmente dos parámetros; para el estudio de estructuras lineales se ha usado la longitud media de cadenas y para los agregados de tipo columna se ha empleado la conectividad ya definida en el capítulo 2. Para una configuración de cadenas

separadas ambas magnitudes están relacionadas por: $L = \frac{2}{2 - C}$ siendo L la longitud media de cadenas, y C la conectividad. Como se puede ver la conectividad tiende a infinito cuando C tiende a 2, correspondiente al caso de cadenas ilimitadas. En el caso agregación en columnas la relación anterior deja de cumplirse y C puede superar el valor de 2 fácilmente; éste es el motivo de usar ambas magnitudes; la longitud media de cadenas aporta una información interesante, y además ha sido utilizada por diversos autores, pero en el caso de columnas y agrupaciones densas en general es necesaria la utilización de otra cuantificación como la conectividad.

En la figura 4.1 se muestran diferentes estadios de evolución del sistema correspondientes a diferentes instantes, para una concentración de células (medida como fracción de superficie cubierta de 0.4.) De la simple observación de estos resultados preliminares resulta evidente que hay dos regímenes de agregación. Inicialmente se da una rápida formación de cadenas, seguida en una fase posterior, de una unión de éstas para formar estructuras de tipo columna, de manera mucho más lenta.

Con el fin de analizar la influencia de la frecuencia y la intensidad del campo aplicado en la dinámica de la formación de cadenas, se han llevado a cabo dos tipos de estudio; uno a baja concentración $C = 0.2$, que permite el estudio en la formación de cadenas, hasta un tiempo de 0.1 s y otro a más alta concentración $C = 0.4$, que muestra la formación de columnas hasta un tiempo de $t = 0.25$ s.

En la figura 4.2 se muestra la evolución inicial de la longitud media de cadenas después de la aplicación de un campo $E = 2 \cdot 10^4 \text{ Vm}^{-1}$ y una concentración de $C = 0.2$. La frecuencia se ha variado en el rango de $10^2 \text{ Hz} - 10^9 \text{ Hz}$. Se observa

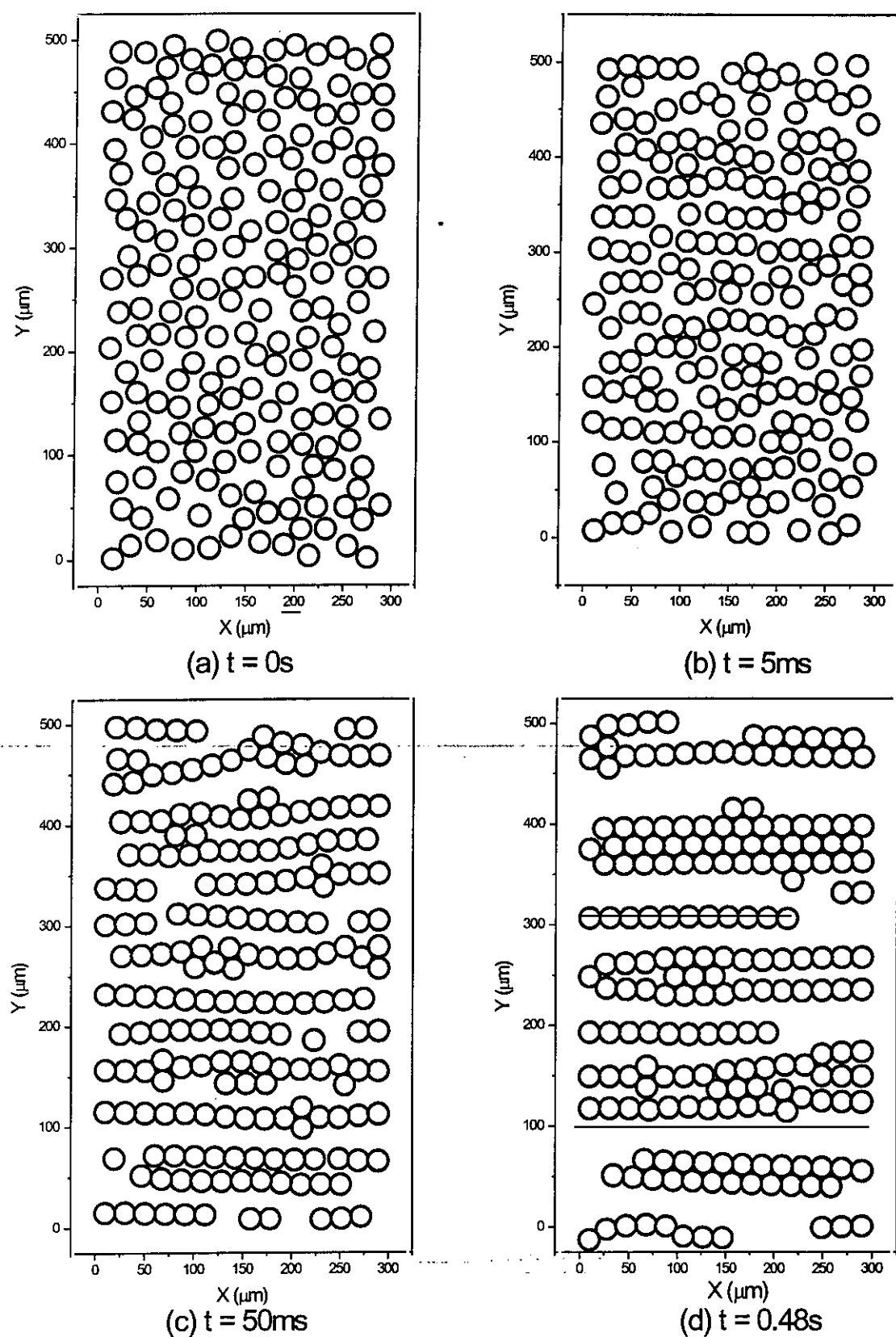


Figura 4.1. Se muestran diferentes estados de agregación, correspondientes a cuatro instantes tras la aplicación del campo. $E = 4 \cdot 10^4 \text{ Vm}^{-1}$. $f = 1 \text{ MHz}$. Fracción superficial = 0.4.

cómo, para una frecuencia dada, el incremento de la longitud de cadenas con el tiempo es casi lineal. El ritmo de agregación es fuertemente dependiente de la frecuencia, mostrando un máximo para las frecuencias estudiadas, a 10^4 Hz.

En la figura 4.3 se pueden ver dos espectros de dielectroforesis en términos de longitud media de cadenas para dos instantes de tiempo. La forma de la gráfica se asemeja considerablemente a al espectro de la polarizabilidad efectiva de interacción, ver la figura 2.5, hecho que cabe esperar teniendo en cuenta que la fuerza entre partículas depende de la frecuencia a través de α .

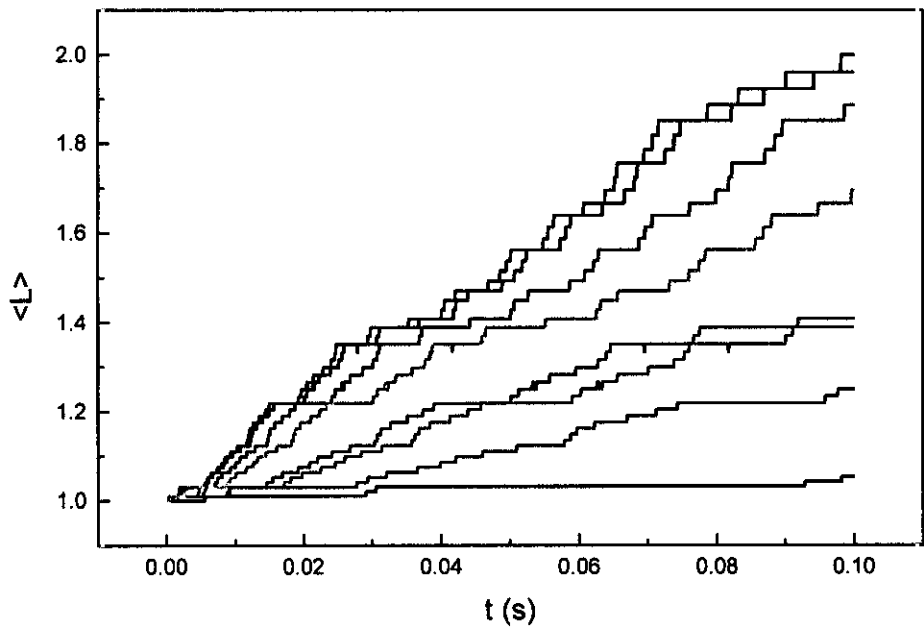


Figura 4.2. Influencia de la frecuencia en el tiempo de evolución de la longitud media de cadenas. Concentración = 0.2, valor eficaz del campo $E = 2 \cdot 10^4 \text{ Vm}^{-1}$. Los valores de la frecuencia son: (—) 10^2 Hz, (—) 10^5 Hz, (—) 10^7 Hz, (—) 10^7 Hz, (—) 10^4 Hz, (—) 10^2 Hz, (—) $4 \cdot 10^7$ Hz, (—) 10^8 Hz.

En la figura 4.4 se representa la conectividad en función del tiempo, para diferentes valores del campo, mostrando grandes diferencias en la pendiente inicial

de las curvas de longitud media de cadenas (que podría interpretarse como una velocidad de agregación) con la intensidad de campo aplicado, para una frecuencia fija de $f = 10^5$ Hz. Se puede observar que en el rango elegido la velocidad de agregación es muy sensible a la intensidad de campo. Los cálculos muestran que por debajo de un valor de $E = 5 \text{ kV m}^{-1}$ ésta es despreciable. Este hecho parece sugerir la existencia de un umbral de intensidad de campo situado en ese valor para la formación de cadenas; sin embargo esta predicción no puede ser segura ya que la simulación solamente alcanza un tiempo de 0.1 s, lo que no permite excluir la posible formación de agregados a intensidades de campo inferiores y tiempos mayores.

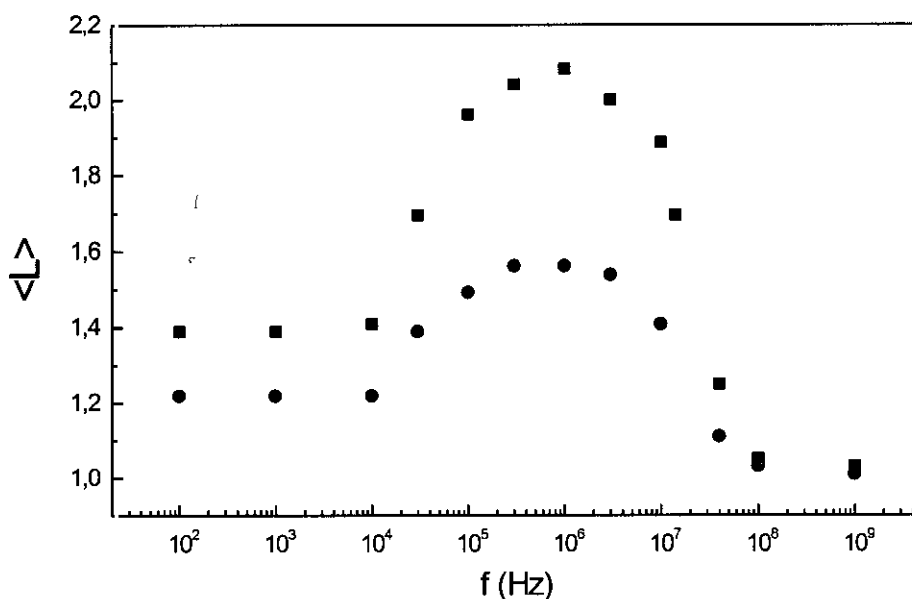


Figura 4.3. Dependencia de la longitud media de cadenas para dos instantes de tiempo tras la aplicación del campo eléctrico. Concentración = 0.2 , $E = 2 \cdot 10^4 \text{ Vm}^{-1}$, $f = 10^5$ Hz, $t = 0.05 \text{ s}$ (•) y $t = 0.1 \text{ s}$ (■).

De hecho el estudio llevado a cabo mediante el método de Monte Carlo para régimen estacionario predice valores de campo crítico más bajos (capítulo 2) [25].

Con el propósito de caracterizar la dinámica de agregación, se ha estudiado la evolución temporal de la conectividad para una frecuencia de $f = 10^6$ Hz que corresponde a un máximo en el espectro de polarizabilidad, y tres intensidades de campo aplicado. $E = 10^4$, $2 \cdot 10^4$ y $4 \cdot 10^4$ Vm^{-1} . Los resultados se muestran en la figura 4.4. En los primeros instantes, hasta tiempos del orden de 10^{-2} s después de la aplicación del campo se observa una variación muy rápida de la conectividad, con

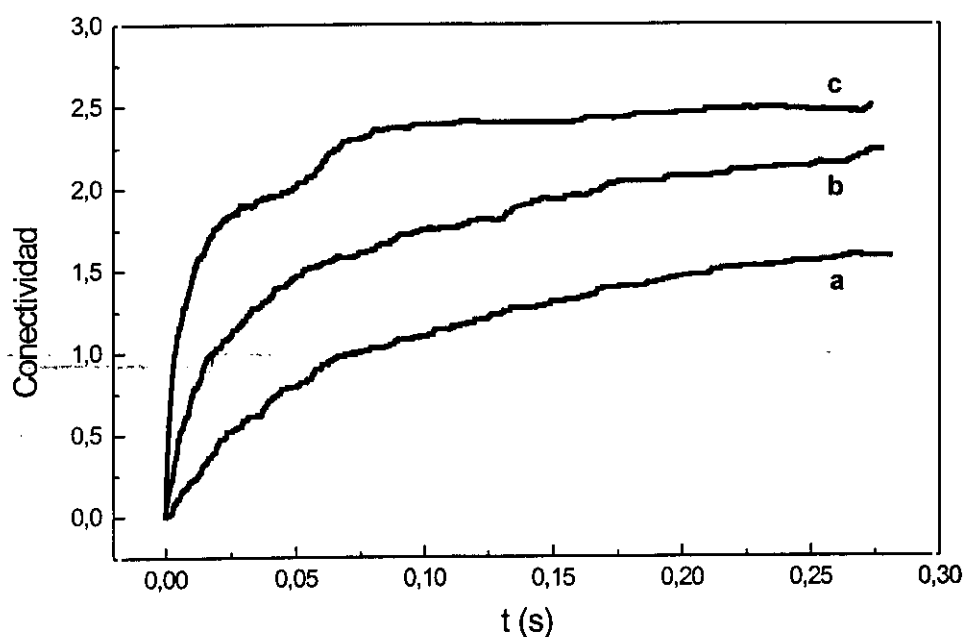


Figura 4.4. Dependencia de la conectividad con el tiempo para diferentes intensidades de campo. Los valores eficaces del campo aplicado son: (a) $E = 10^4$ Vm^{-1} (b) $E = 2 \cdot 10^4$ Vm^{-1} y (c) $E = 4 \cdot 10^4$ Vm^{-1} .

pendientes que muestran una gran dependencia del campo aplicado. Para tiempos mayores la variación se suaviza y las pendientes son prácticamente independientes del campo, mientras la conectividad tiende a un valor de saturación. Una inspección visual de las estructuras formadas en distintos tiempos, muestra que los valores de conectividad en torno a 2 corresponden al agregado de cadenas para formar grumos

de mayor tamaño. Es importante resaltar, que siempre se dan los dos regímenes de agregación consecutivos, primero se produce una formación de cadenas, éste es un proceso rápido, y posteriormente las cadenas se agregan entre ellas para dar lugar a la formación de columnas, siendo éste un proceso de mayor lentitud. La formación de cadenas y la agregación posterior de éstas, se pueden ver en las figuras 4.1(c) y 4.1(d) respectivamente.

Otra magnitud interesante que se puede utilizar para caracterizar la evolución del sistema es la *distancia mínima media*, definida como el promedio de distancias entre parejas de partículas más próximas. Esta magnitud, a diferencia de la conectividad y la longitud media de cadenas, varía de forma continua con el tiempo, lo que le da una importancia especial en el estudio de la velocidad de agregación del sistema. Sin embargo la distancia mínima media es útil solamente en la caracterización del

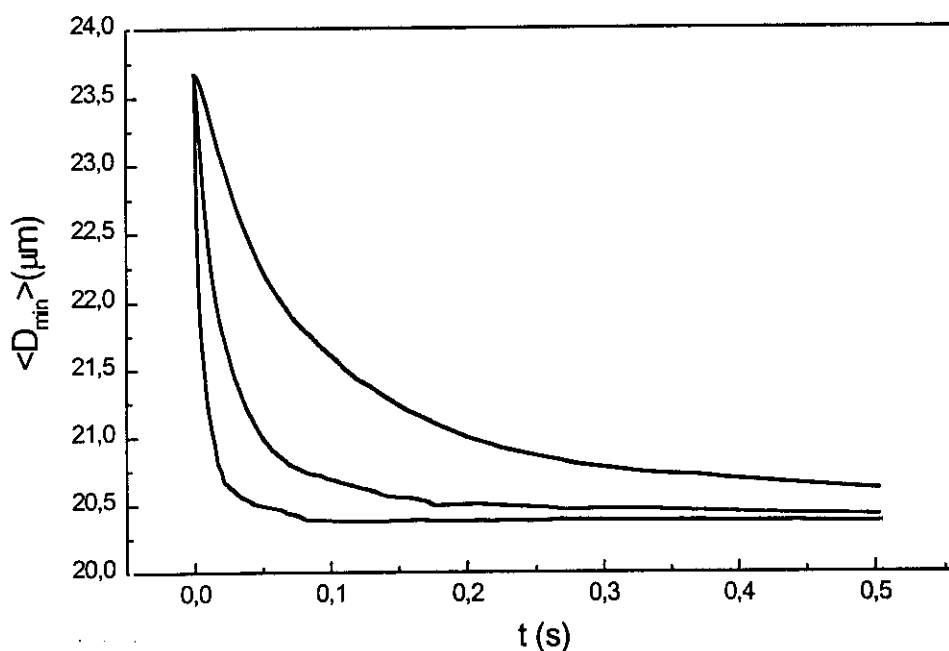


Figura 4.5. Dependencia de la distancia mínima media con el tiempo. $C = 0.3$, $f = 10^5$ Hz. Los valores eficaces del campo aplicado son: (a) $E = 10^4 \text{ Vm}^{-1}$ (b) $E = 2 \cdot 10^4 \text{ Vm}^{-1}$ y (c) $E = 4 \cdot 10^4 \text{ Vm}^{-1}$.

sistema en los instantes iniciales de emparejamiento de partículas, ya que pasado un cierto tiempo, cuando la mayoría de las partículas están en contacto con otras, la distancia mínima media se hace estacionaria, tendiendo al valor de contacto, o sea un diámetro. En la figura 4.7 se muestra el comportamiento de la distancia mínima media para tres campos aplicados diferentes.

Con el fin de aprovechar más las posibilidades que ofrece la simulación, se ha aplicado el estudio a otro microorganismo, la levadura de la cerveza, *Saccaromices Cerevisiae*, del cual ya hemos hablado en el capítulo 3. Esto se ha hecho siguiendo el objetivo enunciado brevemente en el capítulo 2, donde expresábamos el deseo de que la simulación sirviese de soporte a posibles trabajos experimentales. Ya comentamos en el capítulo 3 las bondades de la levadura para la experimentación dielectroforética. Por ello hemos estudiado la dependencia de la agregación debida a la acción del campo como función de la conductividad del medio externo. La conductividad de la suspensión es un variable de importancia práctica para técnicas bioeléctricas como por ejemplo la electrofusión. Por otra parte, es un parámetro controlable mediante la adición de electrolitos, generalmente KCl o NaCl, a la suspensión. Los resultados de la simulación se pueden ver en la figura 4.6, donde se ha representado la longitud media de cadenas alcanzada tras 0.3 s de aplicación del campo, para dos frecuencias diferentes. La agregación producida por el campo es alta para una conductividad baja; la dielectroforesis es menos efectiva a medida que la conductividad del medio externo aumenta, mostrando un mínimo que depende de la frecuencia. En la misma figura 4.6 hemos representado superpuesta la curva teórica para la polarizabilidad. Vemos que la forma de la curva se ajusta a la variación de L con σ_1 . Para la frecuencia de 1 MHz el mínimo se encuentra para un valor de σ_1 del

orden de la conductividad del citoplasma. Este mínimo se desplaza a valores menores cuando la frecuencia disminuye de acuerdo con el comportamiento de la polarizabilidad efectiva, como se ve en la figura. Debemos decir sin embargo, que para baja frecuencia algunos efectos no incluidos en la simulación, como la polarización de electrodos pueden ser importantes; por otro lado, para altas conductividades, el calentamiento debido al paso de la corriente puede producir corrientes de convección que interfieran en el proceso de encadenamiento y hagan que no se puedan observar los resultados predichos por la teoría.

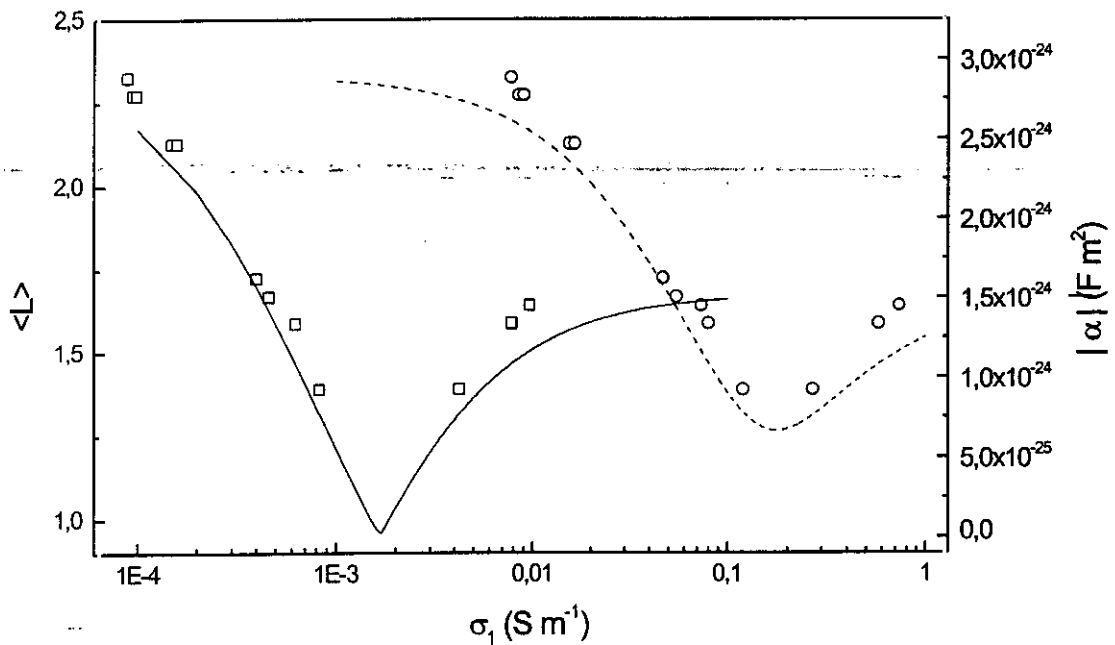


Figura 4.6. Variación de la longitud media de cadenas en una suspensión de levadura viable (ver Apéndice) con la conductividad del medio externo, para frecuencias del campo aplicado de $f = 10^2 \text{ Hz}$ () y $f = 1 \text{ MHz}$ (o). Las curvas continua y de trazos representan, para las mismas frecuencias, las variaciones correspondientes de la polarizabilidad efectiva.

4.6 Cuantificación de resultados de estructuras de agregación

La cuantificación de resultados finales de estructuras de agregación en suspensiones dielectroforéticas es un aspecto de gran interés en esta disciplina. Varias son las magnitudes que se pueden utilizar con el fin de medir cuál es el estado de agregación o de orden de un sistema de partículas dado. Cinco son las magnitudes que en principio se pueden usar para abordar la mencionada tarea de cuantificación: Conectividad, longitud media de cadenas, distancia mínima media, parámetros de orden y función de correlación por pares. En esta tesis se han utilizado los tres primeros, principalmente porque han sido de ideación propia y original de nuestro grupo de trabajo, además presentaban ciertas ventajas sobre las otras dos magnitudes que se han mencionado. A continuación se hará una descripción comparativa, y se aplicarán estas dos magnitudes a algunas de las estructuras finales obtenidas a lo largo de esta investigación.

4.6.1 Función de correlación por pares

Dada una distribución bidimensional de N partículas definidas por sus vectores de posición \vec{r}_i , se define en general la función de correlación por pares como:

$$\text{FCP}(\vec{r}) = \frac{S}{N^2} \left(\sum_i^N \sum_j^N \delta(\vec{r} - \vec{r}_{ij}) \right)$$

donde S es la superficie sobre la que se distribuyen las partículas, δ es la función delta de Dirac, y $\vec{r}_{ij} = \vec{r}_j - \vec{r}_i$.

La función FCP se suele utilizar para buscar encadenamientos de partículas en una dirección determinada. Se define la función como $FCP_i(r, \theta)$ en la que para cada partícula tomada como origen contribuyen las partículas encontradas a la distancia y ángulo definidos por $r \pm \Delta r$ y $\theta \pm \Delta \theta$, tomando finalmente un promedio:

$$FCP(r, \theta) = \frac{S}{N^2} \sum_{i=1}^N \frac{N_i(r, \theta)}{\Delta S}.$$

Esta definición de FCP es la encontrada habitualmente en artículos sobre simulación de sistemas de partículas, [32]. Esta definición sin embargo, presenta problemas prácticos en su aplicación a sistemas discretos. Para Δr e $\Delta \theta$ constantes, el área de búsqueda ΔS es fuertemente no uniforme para coordenadas polares. Si se intenta mantener ΔS constante a base de ajustar Δr e $\Delta \theta$ para cada r dado, se encuentran limitaciones debidas al tamaño finito de las partículas. Por ello, los resultados obtenidos a partir de esta definición suelen ser bastante pobres. En este trabajo se presenta una definición alternativa para la FCP utilizando un área de búsqueda rectangular constante. En la figura 4.7 se puede ver una representación gráfica de las dos definiciones:

En el desarrollo de la función FCP con un área de búsqueda rectangular, se vió que es conveniente hacer una rotación y traslación de las partículas al origen, de tal manera que la condición de incremento de la función en cada caso, se simplifica: $X_i \leq |\Delta r/2|$ $Y_i \leq |\Delta r/2|$. La función FCP ha sido aplicada a diferentes configuraciones finales para una simulación de Montecarlo de una suspensión binaria. Los resultados se muestran en la figura 4.8. Puede observarse la caracterización de la formación de cadenas, tanto longitudinales como transversales, en una suspensión binaria, para una frecuencia en ambos tipos de agregación son posibles

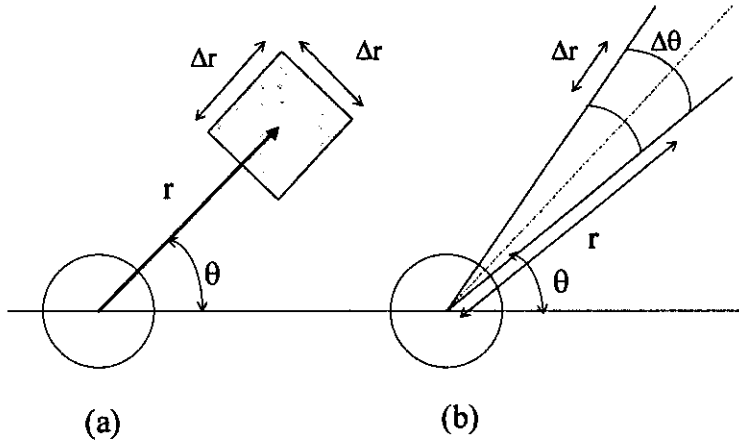


Figura 4.7. Representación gráfica de posibles definiciones de búsqueda para la función FCP. (a) Representación cartesiana. (b) Representación polar.

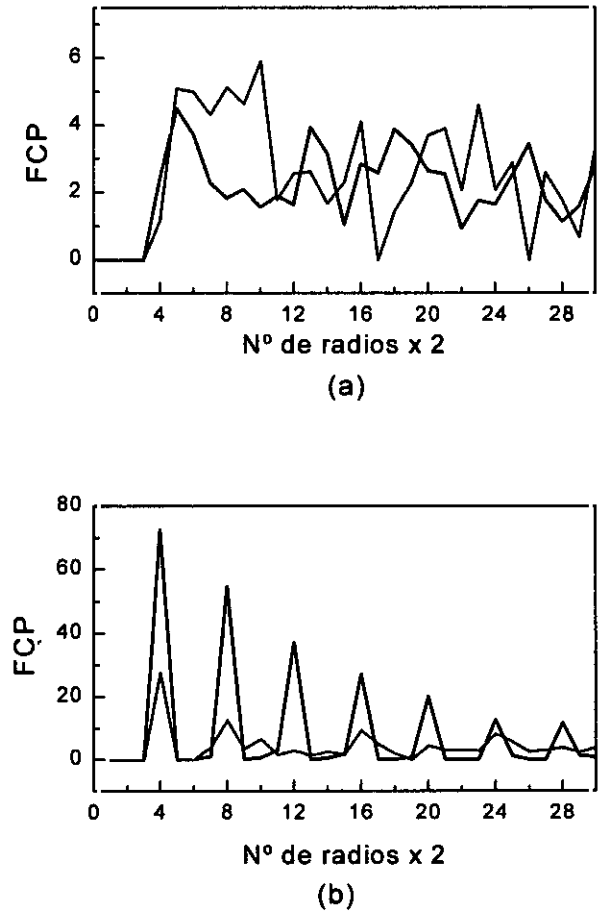


Figura 4.8. Función FCP para una suspensión binaria, de levadura y partículas de poliestireno (véase el capítulo 3). (a) Suspensión aleatoria inicial. (b) Configuración final después de la aplicación de un campo $E = 10^4 \text{ Vm}^{-1}$, $f = 1 \text{ MHz}$, con cadenas longitudinales y transversales. (—) Encadenamiento en la dirección del campo. (---) Encadenamiento en la dirección transversal.

4.6.2 Parámetros de orden de un sistema de partículas

En determinadas condiciones un sistema de partículas que interaccionan físicamente tenderá a alcanzar una configuración espacial que minimice su energía, tal es el caso por ejemplo de un cristal. Podemos utilizar algunas magnitudes tradicionalmente propias de la cristalografía o la física del estado sólido para caracterizar el orden de las estructuras finales de nuestro sistema. Una vez decidida cual es la estructura de mínima energía del mismo, lo cual entraña un problema de considerable complejidad en sí, podemos considerar el sistema como una red espacial y estudiar su orden.

En un sistema bidimensional de partículas esféricas sometidas a un campo eléctrico-homogéneo, se puede demostrar que la configuración de mínima energía es la red hexagonal [32]. Los vectores principales de la red hexagonal son:

$$\begin{aligned}\vec{b}_1 &= D \cdot \vec{i} \\ \vec{b}_2 &= \frac{D}{2} \vec{i} + \frac{\sqrt{3}}{2} D \vec{j}\end{aligned}\quad \text{donde } D \text{ es el diámetro de las partículas.}$$

La red recíproca viene definida por los vectores:

$$\begin{aligned}\vec{b}_1^* &= \frac{1}{D} \vec{i} - \frac{2}{\sqrt{3}D} \vec{j} \\ \vec{b}_2^* &= \frac{2}{\sqrt{3}D} \vec{j}\end{aligned}$$

A partir de los vectores de la red recíproca podemos definir los *parámetros de orden* del sistema

$$\delta_L = \left| \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \exp[2\pi i (\vec{b}_L^* \cdot \vec{r}_k)] \right| \quad : L=1,2$$

Los parámetros δ_L varían entre 0 y 1. Cuando el sistema está totalmente desordenado, con las partículas tomando posiciones al azar, los parámetros toman un valor cercano al cero. Cuando las partículas se van ordenando en las direcciones de la red, los parámetros de orden tienden a 1 según las partículas se van encadenando en las direcciones principales de la red, hasta tomar un valor unidad, si las partículas estuvieran en los vértices de una red hexagonal perfecta. En la figura 4.9 vemos una evolución del parámetro de orden δ_1 que representa el encadenamiento en la dirección del campo, se compara con una curva de conectividad para el mismo sistema.

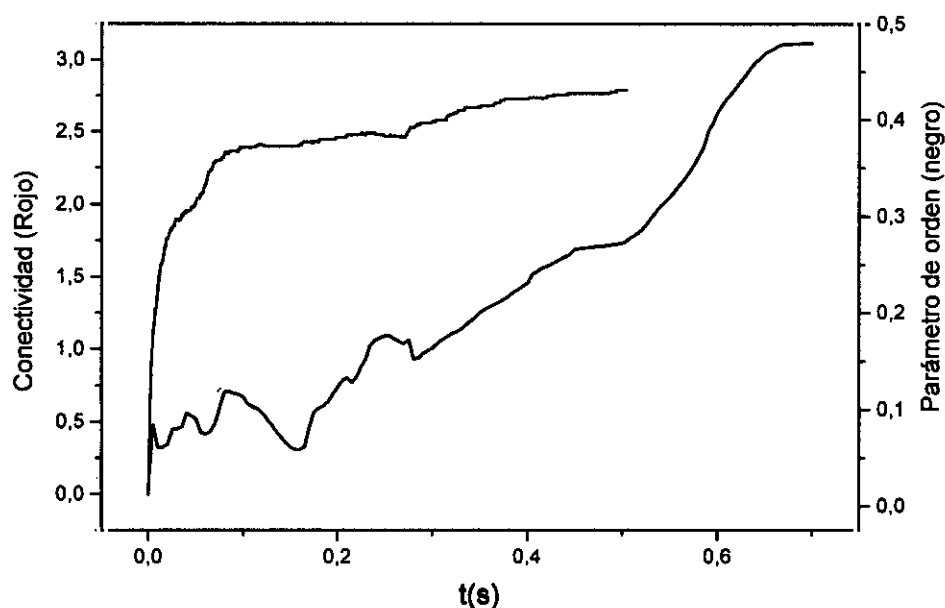


Figura 4.9. Evolución temporal del parámetro de orden y la conectividad, para un sistema de 200 células de *Neurospora Crassa* bajo la acción de un campo $E = 4 \cdot 10^4 \text{ Vm}^{-1}$ y $f = 1 \text{ MHz}$.

Como hemos visto, existen diferentes métodos de cuantificar las estructuras de agregados de partículas, en esta tesis se ha definido y utilizado la magnitud conectividad que ofrece ciertas ventajas sobre los parámetros de orden y la FCP. Por una lado, la conectividad asegura la agregación del sistema y le asocia un valor numérico determinado a cada posible estado de agregación; los parámetros de orden en cambio no describen el contacto, ya que la única condición para incrementar su valor es la disposición geométrica relativa de las partículas; por otro lado, la FCP no asocia un valor numérico determinado a cada estado de agregación del sistema.

La conectividad también puede ser definida para diferentes direcciones sobre el plano, y es aplicable a sistemas con mezcla de partículas de diferente clase, como se vio en el capítulo 3 en el estudio de suspensiones binarias. Los parámetros de orden y la FCP no ofrecen esta versatilidad.

En cuanto a la *distancia mínima media*; esta magnitud informa de la agregación del sistema de manera continua, aunque no del ordenamiento espacial. Es particularmente útil en los instantes iniciales de la evolución del sistema cuando la conectividad es casi nula y muestra un comportamiento altamente discontinuo.

Hay que destacar que la FCP puede ser particularmente útil en sistemas de partículas sin simetría esférica, en las que las condiciones de contacto son difíciles de imponer y el cálculo de la estructura de mínima energía no es trivial. Esto hace que tanto conectividad, como parámetros de orden, no sean magnitudes muy apropiadas en el caso de suspensiones de partículas elipsoidales, mientras que la FCP, sí podría serlo.

4.7 Conclusiones

Se ha estudiado la dinámica del encadenamiento dielectroforético en una suspensión de células biológicas mediante una simulación numérica que integra la ecuación de Langevin con un término estocástico añadido. Se ha particularizado la simulación para los casos de electroagregación de *Neurospora Crassa* y *Saccaromyces Cerevisiae*, que ha sido estudiada para diferentes frecuencias e intensidades del campo aplicado. Se ha encontrado gran similitud entre los espectros de longitud media de cadenas calculados y los espectros de polarizabilidad efectiva de interacción. En los instantes iniciales, la pendiente de la evolución temporal del proceso de encadenamiento, depende fuertemente de la intensidad de campo, lo cual es coherente con la existencia y valor de un campo crítico como el encontrado en el capítulo 3.

Las simulaciones de larga duración y con concentraciones altas han mostrado la aparición de un nuevo régimen, caracterizado por la unión de cadenas para dar lugar a la formación de estructuras mayores, con valores de conectividad superiores a 2. La caracterización de la formación de agregados es importante para aplicaciones en electrorreología, por ejemplo en el diseño de sistemas de viscosidad variable, de acuerdo con la intensidad y frecuencia del campo.

En general, los resultados de este capítulo permiten la evaluación de los efectos de los parámetros dieléctricos de una sola célula tales como la permitividad o la conductividad en el comportamiento colectivo, con énfasis especial en los procesos de evolución temporal.

4.8 Bibliografía

- [1] J.Gimsa, P.Marszalev, U.Loewe and T.Y.Tsong, *Biophys. J.* **60**, 749 (1991).
- [2] K.V.I.S.Kaler and T.B.Jones, *Biophys J.* **57**, 173 (1990).
- [3] J.P.H. Burt, R. Pethig, P.R.C. Gascoyne and F.F.Becker, *Biochim.Biophys.acta* **1034**, 93 (1990).
- [4] M.Egger and E.Donath, *Biophys. J.* **68**, 364 (1995).
- [5] G.Fuhr, R.Hagedorn and T.Mueller, *Studia Biophysica* **107**, 23 (1989).
- [6] U.Zimmerman and J.Vienken, *J. Membrane Biol.* **67**, 165 (1982).
- [7] G.P. Archer, M.C. Render, W.B.Betts and M.Sancho, *Microbios* **76**, 237 (1993).
- [8] K.R.Foster, F.A.Sauer and H.P.Schwan, *Biophys. J.* **63**, 180 (1992).
- [9] H.A. Pohl, *Dielectrophoresis* (Cambridge University Press, London, 1978).
- [10] F.A.Sauer, in *Interactions between electromagnetic fields and cells*, A. Chiabrera, C. Nicolini, and H.P. Schwan, eds., (Plenum Publishing Corp., New York, 1985), p181.
- [11] T.B. Jones, *J. Electrostat.* **6**, 69 (1979).
- [12] Y.Huang, R. Hotzel, R. Pethig and X.Wang, *Phys.Med.Biol.* **37**, 1499 (1992).
- [13] K.Asami, Y. TakaHashi and S.Takashima, *Biochim.Biophys.Acta* **1010**, 49 (1989).
- [14] X.Wang, R. Pethig and T.B.Jones, *J. Phys. D : Appl. Phys.* **25**, 905 (1992).
- [15] K.V.I.S.Kaler, J. Xie, T. B. Jones and R. Paul, *Biophys. J.* **63**, 58 (1992).
- [16] C. Grosse and H. P. Schwan, *Biophys. J.* **63**, 1632 (1992).
- [17] K. R. Foster and A. E. Sowers, *Biophys. J.* **69**, 777 (1995).

- [18] M.J.P. Gringras, P.C.W. Holdsworth and B. Bergensen, *Phys. Rev. A*, **41**, 6786 (1990).
- [19] D. Wei and G.N. Patey, *Phys. Rev. Lett.* **68**, 2043 (1992).
- [20] D. Levesque and J.J. Weis, *Phys. Rev. E*, **49**, 5131 (1994).
- [21] D. J. Klingenberg, Frank Van Swol and C. F. Zukoski, *J. Chem. Phys.* **91**, 7888 (1989).
- [22] T. C. Halsey and W. Toor, *Phys. Rev. Lett.* **65**, 2820 (1990).
- [23] R. Tao and Q. Jiang, *Phys. Rev. Lett.* **73**, 205 (1994).
- [24] D. Wei and G. N. Patey,
- [25] M. Sancho, V. Giner and G. Martinez, *Phys. Rev. E* **55**, 544, (1997).
- [26] H.P. Schwann, in *Advances in Biology and Medical Physics*. Academic Press. New York, 147 (1957).
- [27] J. Honerkamp. *Stochastic Dynamical Systems*. VCH Publishers. New York, (1994).
- [28] I. R. Gatland, *Am. J. Phys.* **62**, 259 (1994).
- [29] M. Fikus, P. Marszalek, S. Rozycki and J. J. Zielinsky, *Stud. Biophys.* **119**, 73 (1987).
- [30] *Numerical Recipes in FORTRAN The Art of Scientific computing*, Cambridge University Press, (1992)
- [32] D. Levesque, J.J. Weis *Phys. Rev. E*, **49**, 6, 5131, (1994).
- [33] R. Friedberg, Yi-Kuo Yu, *Phys. Rev. B* **46**, (1992)

Apéndice

MODELOS ELECTRICOS DE CELULAS BIOLOGICAS Y MICROPARTICULAS

A.1 Introducción

Las micropartículas, tanto las de origen biológico como las de origen sintético o artificial, muestran en general estructuras considerablemente más complejas que las de una esfera homogénea. Con el fin de estudiar su respuesta a campos eléctricos se hace necesario modelar eléctrica y geoméricamente las mismas. El método más simple y comúnmente aceptado es considerar las partículas como un conjunto de capas esféricas concéntricas, cada una de ellas con sus propiedades dieléctricas. Posteriormente mediante el cálculo apropiado se podrá sustituir la partícula esférica con múltiples capas por otra esfera homogénea con una permitividad efectiva que es equivalente a la de la esfera original. El concepto de permitividad equivalente es fundamental en el estudio dielectroforético de sistemas de micropartículas.

A.2 Modelo de la célula de *Neurospora Crassa*

La *Neurospora Crassa* es un protozoo que vive en el fango de lagos y ríos, es un organismo bastante simple que tan solo consta de citoplasma y membrana. El cálculo posterior nos permitirá entender mejor la aplicación de la idea de permitividad equivalente.

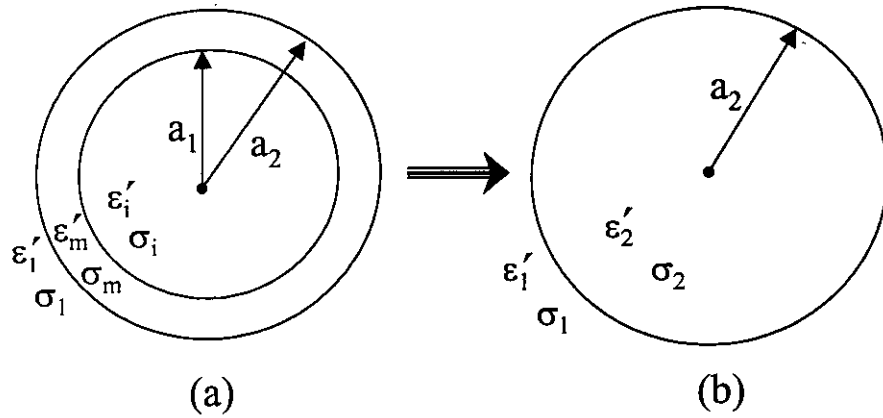


Figura A.1. (a) Modelo dieléctrico de una célula con membrana (b) Esfera homogénea equivalente. Las permitividades son complejas, de la forma $\epsilon = \epsilon' - j \sigma/\omega$

Para este caso, considerando que solo estamos interesados en calcular el momento dipolar inducido en la esfera, lo que nos permite no considerar términos de orden superior en el desarrollo del potencial, podemos expresar la solución de la ecuación de Laplace para el potencial en las tres regiones como:

$$\begin{aligned}\phi_1 &= \left(-E_0 + \frac{A}{r^2} \right) \cos \theta, \quad r > a_2 \\ \phi_2 &= \left(-Br + \frac{C}{r^2} \right) \cos \theta, \quad a_1 > r > a_2 \\ \phi_3 &= -Dr \cos \theta, \quad r < a_1\end{aligned}$$

Con condiciones de contorno en la frontera de los dieléctricos:

$$\begin{aligned}\phi_1 &= \phi_2 \quad ; \quad \epsilon_1 \frac{\partial \phi_1}{\partial r} = \epsilon_m \frac{\partial \phi_2}{\partial r} \quad \text{en } r = a_2 \\ \phi_2 &= \phi_3 \quad ; \quad \epsilon_m \frac{\partial \phi_2}{\partial r} = \epsilon_i \frac{\partial \phi_3}{\partial r} \quad \text{en } r = a_1\end{aligned}$$

En el caso de campo aplicado uniforme esta aproximación va a ser exacta. Para un campo no uniforme, dado que el tamaño de la esfera va a ser generalmente pequeño respecto a la distancia en que el campo varía apreciablemente, los términos multipolares puede usualmente despreciarse.

Resolviendo el sistema de ecuaciones impuesto por las condiciones de contorno, obtenemos la siguiente solución para los coeficientes:

$$A = \frac{\epsilon_{ef} - \epsilon_1}{\epsilon_{ef} + 2\epsilon_1} R_1^3 E_0$$
$$B = -\frac{3\epsilon_1 a^3}{(\epsilon_{ef} + 2\epsilon_1)(a^3 - \kappa)} E_0$$
$$C = \frac{3\epsilon_1(1 - \kappa)a^3}{(\epsilon_{ef} + 2\epsilon_1)} E_0$$
$$D = -\frac{3\epsilon_1(1 - \kappa)a^3}{(\epsilon_{ef} + 2\epsilon_1)(a^3 - \kappa)} E_0$$

donde:

$$\epsilon_{ef} = \epsilon_2 \frac{a^3 + 2\left(\frac{\epsilon_3 - \epsilon_2}{\epsilon_3 + 2\epsilon_2}\right)}{a^3 - \left(\frac{\epsilon_3 - \epsilon_2}{\epsilon_3 + 2\epsilon_2}\right)}$$

(A.1)

con $a = R_1/R_2$. Como se puede ver ϵ_{eff} sustituye a ϵ_2 en el factor de Clausius-Mossotti $\frac{\epsilon_2 - \epsilon_1}{\epsilon_2 + 2\epsilon_1}$ y puede ser entendida como la permitividad equivalente que tendría una partícula homogénea. En la tabla A.1 se muestran los valores numéricos del modelo, para células de *Neurospora Crassa*.

Parámetro	Valor
ϵ_1	80
σ_1	$5 \cdot 10^{-3} \Omega m^{-1}$
ϵ_i	50
σ_i	$0.2 \Omega m^{-1}$
ϵ_m	5
σ_m	0
Grosor membrana	$10^{-8} m$
Radio	$10^{-5} m$

Tabla A.1. Parámetros eléctricos de *Neurospora Crassa*

A.3 Modelo de la célula de levadura.

La levadura, especialmente la variedad *Saccaromices Cerevisiae* es uno de los organismos más utilizados en experimentos dielectroforéticos. Esto es debido a su facilidad de manipulación así como a su resistencia a condiciones adversas, gracias a que su pared celular es capaz de soportar grandes presiones osmóticas, debidas a posibles gradientes de concentración entre el medio intra y extracelular. Este último debe mantenerse a una baja conductividad en los experimentos de dielectroforesis, para evitar convección térmica, lo que implica una concentración de electrolitos muy pequeña. Por el contrario el medio intracelular es rico en iones.

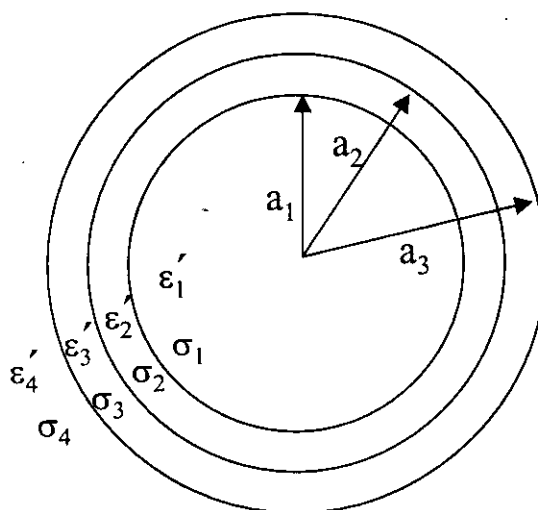


Figura A.2. Modelo geométrico y dieléctrico de una célula de levadura. Las zona 1,2 y 3 representan el citoplasma, la membrana y la pared celular, respectivamente.

Desde el punto de vista dieléctrico, la levadura se puede modelizar como una partícula esférica de tres capas, correspondientes al citoplasma, membrana y pared celular. Cada una de las zonas viene caracterizada por su permitividad y

conductividad propias, que se combinan en una permitividad compleja característica

de cada zona, $\epsilon_i = \epsilon'_i - j\frac{\sigma_i}{\omega}$, (figura A.2)

Con el fin de calcular la polarizabilidad efectiva de la partícula sometida a un campo uniforme resolvemos la ecuación de Laplace con condiciones de contorno en cada una de las interfases, impuestas de manera análoga a como se hizo en el modelo de la célula de *Neurospora Crassa* pero considerando una interfase más.

En cada zona el potencial admite solución general en serie de la forma:

$$\Phi_i = \sum_{n=0}^{\infty} (A_{in} r^n + B_{in} r^{n+1}) P_n(\cos \theta) ; i = 1..4$$

Imponiendo las condiciones de contorno, llegamos a la siguiente solución para los coeficientes del desarrollo en serie.

$$A_{in} = B_{in} = 0 \quad ; \quad n \neq 1$$

$$A_{11} = \frac{-27\epsilon_2\epsilon_3\epsilon_4 a_3^3 E_0}{L_1 + L_2} \quad (A.2)$$

con

$$L_1 = a_3^3(2\epsilon_4 + \epsilon_3) \left[(\epsilon_1 + 2\epsilon_2)(\epsilon_2 + 2\epsilon_3) + 2(\epsilon_2 - \epsilon_1)(\epsilon_3 - \epsilon_2) \frac{a_1^3}{a_3^3} \right]$$

$$L_2 = 2(\epsilon_3 - \epsilon_4) \left[(\epsilon_1 + 2\epsilon_2)(\epsilon_3 - \epsilon_2) a_2^3 + (\epsilon_3 + 2\epsilon_2)(\epsilon_2 - \epsilon_1) a_1^3 \right]$$

$$A_{31} = \frac{A_{11}}{9\epsilon_2\epsilon_3 a_3^2} \left[(\epsilon_1 + 2\epsilon_2)(\epsilon_2 + 2\epsilon_3) a_2^3 + 2(\epsilon_2 - \epsilon_1)(\epsilon_3 - \epsilon_2) a_1^3 \right]$$

$$B_{31} = \frac{A_{11}}{9\epsilon_2\epsilon_3} \left[(\epsilon_1 + 2\epsilon_2)(\epsilon_3 - \epsilon_2) a_2^3 + (\epsilon_3 + 2\epsilon_2)(\epsilon_2 - \epsilon_1) a_1^3 \right]$$

$$A_{41} = -E_0 \quad (A.3)$$

$$B_{41} = \frac{A_{31}(\epsilon_4 - \epsilon_3) a_3^3}{3\epsilon_4} + \frac{B_{31}(2\epsilon_3 + \epsilon_4)}{3\epsilon_4} \quad (A.4)$$

Finalmente el potencial en cada zona está dado por:

$$\begin{aligned}\Phi_1 &= A_{11}r \cos \theta & \Phi_2 &= \left(A_{21}r + \frac{B_{21}}{r^2} \right) \cos \theta \\ \Phi_3 &= \left(A_{31}r + \frac{B_{31}}{r^2} \right) \cos \theta & \Phi_4 &= \left(A_{41}r + \frac{B_{41}}{r^2} \right) \cos \theta\end{aligned}$$

Igualando el potencial en el exterior con el potencial creado por un dipolo, podemos identificar el momento dipolar P inducido en la esfera: $P = 4\pi\epsilon'_4 B_{41}$. De esta ecuación podemos deducir la polarizabilidad efectiva de la esfera y su permitividad equivalente, como:

$$\alpha_{ef} = \frac{4\pi\epsilon'_4}{E_0} B_{41} \quad (A.5)$$

donde B_{41} es función de las permitividades complejas de cada una de las zonas a través de las ecuaciones (A.2 - A.4).

Es frecuente encontrar en la literatura especializada un tratamiento diferente para el cálculo de la polarizabilidad efectiva de la esfera con doble capa. Este consiste en una aproximación conocida como de esferas equivalentes sucesivas (*"smeared out"*), en la cual se calcula primero la permitividad equivalente del interior y la primera capa a través de la fórmula (A.1) y subsecuentemente, utilizando ésta, se van agregando capas hasta sucesivas hasta finalizar calculando la permitividad equivalente total, considerando la capa externa. Se puede comprobar numéricamente que esta aproximación para el caso de tres capas es equivalente al cálculo exacto dado por la ecuación (A.5).

A.3.1 Parámetros dieléctricos de la levadura.

Con el fin de simplificar, se supondrá que el mecanismo principal es el orientacional de dipolos. Considerando que los medios líquidos son disoluciones diluidas de electrolitos en agua, cuyos mecanismos de relajación se suelen dar por encima de los 10^{10} Hz podemos considerar ϵ_1 y ϵ_4 como constantes. Por otro lado la membrana y la pared celular están formadas principalmente por lípidos y proteínas con frecuencias de relajación en el rango 10^5 - 10^7 Hz, que se encuentran en el límite superior de las frecuencias investigadas. Por simplicidad, el efecto de esta relajación se supondrá despreciable sobre ϵ_2 y ϵ_3 .

Por otra parte los tiempos de relajación para conducciones iónicas, como son el citoplasma y el medio externo, pueden ser relacionados de manera aproximada con la conductividad a través de la expresión: $\tau_\sigma \approx 10^{-11}/\sigma$ s. Esto implica frecuencias

críticas : $f_\sigma = \frac{1}{2\pi\tau_\sigma} \approx 2\sigma \cdot 10^{10}$ Hz . Las conductividades asociadas a las soluciones

iónicas del sistema son superiores a $10^{-4} \Omega^{-1}\text{m}^{-1}$, lo que implica frecuencias características: $f_\sigma > 2 \times 10^6$ Hz , con lo cual nos encontramos de nuevo en el límite superior de frecuencias utilizadas experimentalmente, también podemos considerar que no existe relajación de las conductividades de las regiones iónicas σ_1 y σ_4 . La

membrana sin embargo presenta un comportamiento distinto con una conductividad mucho más baja del orden de 10^{-7} - 10^{-4} mho m [1] lo que implica frecuencias características en el rango 2×10^3 - 2×10^6 Hz. Por este motivo σ_2 debe permanecer

compleja adoptando una expresión de la forma: $\sigma = \sigma_{2\infty} + \frac{\sigma_{2s} - \sigma_{2\infty}}{1 + j\omega\tau_\sigma}$. Es conveniente

aclarar que la parte imaginaria de esta conductividad contribuirá a la parte real de la

permitividad compleja correspondiente, como requieren las relaciones de Kramers-Kronig. El análisis previo ha hecho hincapié en los mecanismos físicos de conductividades y permitividades, cuyas partes reales e imaginarias son posteriormente combinadas para dar lugar a las permitividades complejas de cada zona.

A.3.2 Valores empleados en el modelo para la levadura

El medio circundante será en general una suspensión acuosa salina, en la que tomaremos $\epsilon_{4r} \approx 80$ y una conductividad que puede variar entre $10^{-4} - 10^{-1} \Omega^{-1}m^{-1}$.

En cuanto a los valores dieléctricos asignados a la capa iónica, no existen valores determinados experimentalmente. Supondremos que en ella el agua está en un estado parcialmente ligado, con una permitividad inferior a la del medio exterior, del orden de 40. Tomaremos una conductividad σ_3 proporcional a la del medio externo tal que $\sigma_3 = h \cdot \sigma_4$; la constante h es un parámetro ajustable a datos experimentales. El grosor de la capa iónica se toma del orden de la longitud de Debye, $(a_3 - a_2) = 4 \cdot 10^{-9} m$ para $\sigma_1 = 1 \Omega^{-1}m^{-1}$. También deben ser ajustados con datos experimentales los valores de la conductividad $\sigma_{2\infty}$ y tiempo de relajación de la membrana τ_2 . Finalmente el radio promedio de las células de levadura se toma como $a_1 = 6 \cdot 10^{-6} m$.

Los valores finales de los diferentes parámetros que han sido utilizados en la simulación se muestran en la tabla A.2.

Parámetro	Valor
a_1	$6 \cdot 10^{-6} \text{ m}$
$a_2 - a_1$	10^{-8} m
$a_3 - a_2$	$4 \cdot 10^{-9} \text{ m}$
ϵ_{1r}	60
ϵ_{2r}	9
ϵ_{3r}	40
ϵ_{4r}	80
σ_1	1 mho m^{-1}
σ_{2s}	$10^{-6} \text{ mho m}^{-1}$
$\sigma_{2\infty}$	$9.9 \cdot 10^{-6} \text{ mho m}^{-1}$
τ_σ	10^{-3} s
h	$4.9 \cdot 10^3$

Tabla A.2 Parámetros eléctricos de *Saccharomyces Cerevisiae*

A.4 Modelo de la partícula de poliestireno

En lo que concierne a su modelización las partículas de poliestireno se suelen incluir en la clase de partículas con carga superficial y por tanto con capa iónica significativa. Los modelos que tratan de resolver el problema de la distribución de iones a través de las ecuaciones de Boltzman-Poisson, combinadas con la de electrodifusión, llevan en general a expresiones demasiado complicadas para ser de utilidad práctica [6]. El modelo alternativo comunmente aceptado para estas partículas en suspensión es el de conductancia superficial, en el se supone a la partícula de poliestireno como una esfera dieléctrica con una conductividad y permitividad propias que está rodeada de una fina capa con una conductividad mucho más alta que la de la partícula y el medio circundante. Esta conductividad superficial puede ser debida a varios factores, desde cargas propias asociadas a la superficie de la partícula que a su vez crean una capa de contraiones, a la acumulación de carga debida a efecto Maxwell-Wagner. Así, en general, la conductividad superficial es entendida físicamente como la suma de un conjunto de

portadores de carga móviles asociados a la superficie, (estos pueden ser grupos químicos cargados, defectos de carga o huecos, incluso protones que pueden saltar de unos grupos a otros), y una atmósfera iónica. Podemos expresar la conductividad superficial como:

$$\lambda = \lambda_s + \lambda_a = \sum_i s_i u_i z_i + \int_{-\infty}^0 (\sigma'_1 - \sigma_1) dy + \int_0^{\infty} (\sigma'_2 - \sigma_2) dy$$

Donde: $s_i \equiv$ Número de portadores por unidad de superficie de la especie i

$z_i \equiv$ carga asociada a la especie i

$u_i \equiv$ movilidad de la especie i

σ'_1 y $\sigma'_2 \equiv$ son las conductividades del medio y la partícula lejos de la interfase.

σ_1 y $\sigma_2 \equiv$ son las conductividades asociadas a la atmósfera iónica y pueden ser expresadas cada una de ellas como: $\sigma = \sum_i n_i(y) z_i l_i(y)$ siendo l la conductancia de la especie i en la posición y y $n_i(y)$ la densidad de portadores.

El origen de la coordenada y se toma sobre la interfase.

Una vez introducida la conductividad superficial podemos calcular la polarizabilidad efectiva de la partícula, para ello debemos resolver una vez más la ecuación de Laplace con las condiciones de contorno adecuadas.

$$\nabla^2 \Phi = 0$$

$$\Phi_1 = \Phi_2, \quad r = R$$

$$\epsilon_1 \frac{\partial \Phi_1}{\partial r} - \epsilon_2 \frac{\partial \Phi_2}{\partial r} = 4\pi \rho_s, \quad r = R$$

ρ_s es la Densidad de carga libre sobre la superficie

Esta densidad de carga libre ρ_s sufre variaciones temporales bajo la acción de un campo armónico principalmente por dos mecanismos: (a) Transporte de iones a y desde la superficie como resultado de las conductividades propias de la partícula y el medio. Esta contribución viene representada por:

$$\frac{d\rho_s^a}{dt} = \sigma_1 \left. \frac{\partial \Phi_1}{\partial r} \right|_{r=R} - \sigma_2 \left. \frac{\partial \Phi_2}{\partial r} \right|_{r=R} ;$$

(b) Transporte de iones sobre la superficie como resultado de la conductividad superficial, lo que origina un término de la forma:

$$\frac{d\rho_s^b}{dt} = \frac{\lambda}{R^2 \sin \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\sin \theta \left. \frac{\partial \Phi_2}{\partial \theta} \right|_R \right).$$

Como ambos mecanismos actúan simultáneamente tenemos la siguiente ecuación para la continuidad de la corriente:

$$\frac{d\rho_s}{dt} = \sigma_1 \left. \frac{\partial \Phi_1}{\partial r} \right|_{r=R} - \sigma_2 \left. \frac{\partial \Phi_2}{\partial r} \right|_{r=R} + \frac{\lambda}{R^2 \sin \theta} \frac{\partial}{\partial \theta} \left(\sin \theta \left. \frac{\partial \Phi_2}{\partial \theta} \right|_R \right)$$

Esta ecuación junto con la de Laplace dan como solución para el potencial fuera de la partícula:

$$\Phi_1 = -E_0 r \cos \theta + \left(\frac{\epsilon_{ef} - \epsilon_1}{\epsilon_{ef} + 2\epsilon_1} \right) R^3 E_0 \frac{\cos \theta}{r^2}$$

con:

$$\epsilon_{ef} = \epsilon_2 - j \frac{\sigma_2 + \frac{2\lambda}{R}}{\omega}$$

Como podemos ver en la permitividad efectiva resultante, el efecto de una conductividad superficial λ es equivalente a incrementar la conductividad de la partícula en $2\lambda/R$.

Este modelo de la partícula de poliestireno no permite explicar satisfactoriamente algunos aspectos de las observaciones realizadas en experimentos de dielectroforesis y electrorotación sobre suspensiones de partículas de látex, que especialmente a bajas frecuencias parecen mostrar un comportamiento anómalo. Es aceptado [1-3] que con el fin de describir el comportamiento del poliestireno a baja

frecuencia es necesario añadir una nueva dispersión a la conductividad a baja frecuencia, de tal manera que la conductividad de la partícula toma la siguiente forma:

$$\sigma_p = \sigma_2 + \frac{2\lambda}{R} + \frac{A}{1 + (j\omega T)^\alpha}$$

donde A y T definen la amplitud y tiempo característico de la dispersión de la conductividad a baja frecuencia, y deben ser ajustados de acuerdo con el experimento. En nuestra simulación hemos utilizado el modelo de conductancia superficial con dispersión a baja frecuencia. Adicionalmente al igual que en el caso de la levadura, al modelo le ha sido añadida una capa de agua ligada a la superficie de la partícula cuya existencia es razonable y está descrita en la literatura [3]. Su permitividad es inferior a la del agua libre y su conductividad proporcional a la del medio a través de la constante h. Los valores exactos de estos parámetros se han obtenido mediante ajuste, con muy buen acuerdo a datos experimentales [4-5].

A continuación se dan los valores empleados en el modelo:

Parámetro	Valor
Radio de la partícula	6 μm
Grosor de la capa de agua ligada	5·10 ⁻⁹ m
Permitividad del poliestireno	2.5
Permitividad de la capa ligada de agua	60
Conductancia superficial	3·10 ⁻⁹
h	0.025
T	0.5
α	0.8
A	100

Tabla A.3 Parámetros eléctricos de la partícula de poliestireno

A.5 Bibliografía

- [1] Ockonsky T. A Theory of the low-frequency dielectric dispersion of colloidal particles in electrolyte solution. *J. Phys. Chem.*, **43**, 3562-3569, (1965).
- [2] Arnold WM, Schwan HP, Zimmerman U. Surface Conductance and other properties of latex particles measured by electrorotation. *J. Phys. Chem.* **91**, (1987).
- [3] Electromechanics of particles T. B. Jones, Cambridge University Press, (1995)
- [4] Zhou X-F, Markx GH, Pethig R, Eastwood IM. Differentiation of viable and non-viable bacterial biofilms using electrorotation. *Biochim Biophys Acta* 1245, (1995).
- [5] M. Sancho y M. Llamas datos experimentales sin publicar.
- [6] Electrical properties of biopolymers and membranes, S. Takashima, Cap. 6, Ed. Adam Hilger, (1989).